



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OBEZ / FAZLA KİLOLU KADINLARDA AKTİVİTE İSTEĞİNDE
ETKİLİ OLAN GENLER VE BUNLARA BAĞLI FENOTİPİK (VKİ VE
BMH) ÖZELLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

AYLAR TAFAZZOLİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. İlter GÜNEY

İSTANBUL-2013

Ek 3. BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih 22.06.2013

Ad Aylar Tafazzol

İmza 

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Tez Sahibi : Aylar TFAZZOLİ
Tez Başlığı : Obez/Fazla Kilolu Kadınlarda Aktivite İsteğinde Etkili Olan Genler ve Bunlara Bağlı Fenotipik (VKİ ve BMH) Özelliklerinin Araştırılması.
Sınav Yeri : Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 22/07/2013

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman
Yrd. Doç. Dr. İter GÜNEY

Kurumu
Marmara Üniversitesi

İmza

Sınav Jüri Üyeleri
Prof. Dr. Hızır KURTEL
Yrd.Doç. Dr. Can ERZİK

M.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.
M.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D.

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 01.../08/2013 tarih ve 65 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Velut Prof. Dr. İnci ALICAN
yu

I. TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmam süresince bilgi birikimi ve görüşleriyle beni yönlendiren, her zaman desteğini hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. İlter Güney'e,

Paylaştığı bilgi birikimi ve deneyimleriyle, eğitimim boyunca bana yardımcı olan değerli hocam, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Ayşe Özer'e,

Çalışmamın planlanması ve yürütülmesinin her aşamasında destek olan ve yol gösteren hocam Prof.Dr.Hızır Kurtel'e,

Klinik verilerin ve örneklerin toplanmasındaki büyük katkılarından dolayı Marmara Üniversitesi Spor Fizyolojisi Anabilim Dalı'ndaki Uzm. Dr. Serpil Çeçen , Şule Bulut ve Yrd. Doç. Dr. Özgür Kasımay'a,

Çalışmalarım boyunca ilgi ve yardımlarından dolayı Tıbbi Genetik Bölümünden çalışma arkadaşlarım Dr.Deniz Kırış'e, MSc. Tuba Avcılar'a MSc. Gülşah Koç'a , Pınar Gültepe'ye .

Eğitimim süresince bilgilerini ve sevgilerini benimle paylaşan Marmara Üniversitesi Tıbbi Genetik ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dallarında'daki tüm arkadaşlarıma,

İstatistiksel analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı Dr. E. Çiğdem Kaspar'a,

Tez çalışmam sırasındaki manevi desteğinden dolayı Aydın Babai ve Sonya Lotfi'ye.

Hayatım boyunca sonsuz sevgi ve desteğiyle her zaman yanımda olan, emeklerini asla ödeyemeyeceğim aileme. Şu an hayatta olmsa da ruhunun sıcaklığını her daim yanımda hissettiğim babama,

TEŞEKKÜR EDERİM.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırmaları Komisyonu Başkanlığı tarafından "SAG-C-YLP-110412-0066" numaralı proje ile desteklenmiştir.

II. İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR	iii
II. İÇİNDEKİLER	iv
III. KISALTMALAR VE SİMGELER	vi
IV. ŞEKİL RESİM ve TABLOLAR	viii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	6
4.1. Obezitenin tanımı	6
4.2. Obezitenin prevalansı	6
4.3. Obezitenin ölçüm yöntemleri	6
4.3.1. Vücuttaki yağın direkt ölçümü	6
4.3.2. Vücuttaki yağın indirekt ölçümü	7
4.3.2.1. Boy uzunluğu ve vücut ağırlığı	7
4.3.2.2. Beden kütle indeksi, Quetelet indeksi	7
4.3.2.3. Çevre ölçümleri	8
4.3.2.4. Deri kıvrım kalınlıkları	8
4.4. Obezitenin etyolojisi	9
4.4.1. Yaş	9
4.4.2. Cinsiyet	9
4.4.3. Beslenme alışkanlıkları	9
4.4.4. Sosyoekonomik düzey	10
4.4.5. Piskolojik durum	10
4.4.6. Sigara ve alkol	11
4.4.7. İlaç kullanımı	11
4.4.8. Genetik	11
4.4.9. Fiziksel aktivite	12
4.4.9.1. Leptin	12
4.4.9.2. Leptin reseptör geni	13
5. GEREÇ ve YÖNTEMLER	14
5.1. Çalışma grubu	14
5.2. Gereç ve yöntem	14
5.2.1. Genetik ölçümler	14
5.2.1.1. Kullanılan aletler	15
5.2.1.2. Kullanılan kimyasallar	15
5.2.1.3. Kullanılan ticari kitler	15
5.2.1.4. Kullanılan primerler	15
5.2.1.5. Kullanılan kimyasal çözeltiler	16
5.2.1.5.1. PZR	16
5.2.1.5.2. Agaroz jel elektroforezi	16
5.2.1.6. Kullanılan bilgisayar programlar	17
5.2.1.7. Yanak epitel dokusundan DNA izolasyonu	17
5.2.1.8. Polimeraz zincir reaksiyonu	18
5.2.1.9. Agaroz jel elektroforezi	20
5.2.1.10. DNA dizi analizi	21

5.2.2. Fizyolojik ölçümler	22
5.2.2.1. Vücut kompozisyonu ve VKI ölçümü	22
5.2.2.2. Dinlenik metabolizma ölçümü	23
5.2.2.3. Günlük toplam enerji harcama ölçümü	23
6. BULGULAR	26
6.1. Klinik Veriler	26
6.2. PZR Sonuçları	26
6.2.1. Lepr geni ekzon 6 PZR sonuçları	27
6.2.2. Lepr geni intron 7 sonuçları	27
6.3. Dizi Analizi Sonuçları	28
6.4. Antropometrik Sonuçlar	30
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	34
8. KAYNAKLAR	38
9. ÖZGEÇMİŞ	45
10. ETİK KURUL ONAYI	46

III.KISALTMALAR ve SİMGELER

aa:	Amino asit
AEH:	Aktivite enerji Harcaması
Bç:	Baz çifti
BMI:	Vücut kütle endeksi
BMH:	Bazal metabolik hız
BİA:	Biyoelektriksel İmpedans Analizi
CoA	Asetil karboksilaz
DEXA:	Dual enerji x ışını absorsiyometres
DLW:	Çift Etiketli Su
DKK:	Deri kıvrım kalınlıkları
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DMH:	Dinlenik metabolizma hızı
dNTP:	Deoksiribonükleotit-3-fosfat
EDTA:	Etilendiamin tetra asetik asit
FA:	Fiziksel aktivite
FAD :	Fiziksel aktivite düzeyi
JAK:	Janus-aktive kinaz
Kb:	Kilobaz
kDa:	Kilodalton
LBM :	Yağsız vücut kitlesi
Lepr :	Leptin reseptör geni
mRNA:	Mesajcı RNA
Ob gen:	Obezite geni
OB-Ra:	Kısa reseptör
OB-Rb:	Uzun reseptör
PZR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
Q=Gln:	Glutamin
R=Arg:	Arginin
RNA:	Ribonükleik asit

RPM:	Devir/dakika
RMR:	Dinlendik metabolizma hızı
rRNA:	Ribozomal RNA
S:	Sentez
STAT :	Transkripsiyon aktivatörü
tRNA:	Taşıyıcı RNA
TEE :	Toplam enerji tüketimi
TSP:	Trombospondin
UV:	Ultraviyole, Mor ötesi
UCP2 :	Uncoupling protein 2 geni
YK:	Yağ Kütlesi
YAĞSIZ K :	Yağsız kütlesi

IV. ŞEKİL, TABLO ve GRAFİKLER LİSTESİ

i.Őekiller Listesi

Şekil 5.1. PZR ile çoğaltılan Lepr genine ait DNA bölgeleri	19
Şekil 5.2. Actical (ivme ölçer) cihaz çıktısı	25
Şekil 6.1. Lepr ekzon 6 PZR amplifikasyonu örneği	27
Şekil 6.2. Lepr intron 7 PZR amplifikasyonu örneği	27
Şekil 6.3. Lepr geni mutasyon ve polimorfizmlerine sahip DNA dizi analizi örnekleri	28

ii. Tablolar Listesi

Tablo 5.2. Ulusal Araştırma Konseyinin A.B.D fiziksel aktivite düzeyi (FAD).....	24
Tablo 6.1. Hastaların antropometrik ve AEH ölçüm bilgileri.....	26
Tablo 6.2. Aktivite düzeyi az ve orta olan grupların antropometrik ve AEH ölçüm bilgileri.....	25
Tablo 6.3. Belirlenen polimorfizmlerin Lepr genindeki yerleşimi.....	29
Tablo 6.4. Lepr gen polimorfizmlerin 3' lü hasta aktivite düzeyi gruplandırılmadaki oranları ve P değerleri.....	30
Tablo 6.5. Lepr gen polimorfizmler ile antropometrik ve AEH harcaması ile ilişkisi.	30
Tablo 6.6. Az aktivitesi olan obezler ile orta aktivitesi olan grupların antropometrik ölçümleri ve AEH değerleri açısından farklılıkları.....	31
Tablo 6.7. Çok az aktivitesi olan obezler ile az ve orta aktivite düzeyi olan obezler ile antropometrik ölçümler ve AEH değerleri açısından farklılıkları	32
Tablo 6.8. Gruplar arasındaki farkın hangi değişkenden kaynaklandığını	32

1. ÖZET

Obezite günümüzde en hızlı yayılan hastalıklar arasında başta gelenlerden biridir. Ülkemizde erkeklerin %20'si ve kadınların % 40'ı olmak üzere, toplumun %30' undan fazlası obezdir. Birçok kronik hastalığın obeziteyle yakından ilişkili olduğu bilinmektedir . Bu nedenle obezitenin etkenleri ve tedavi seçeneklerini iyi bilmek, obezite ve komplikasyonlarının en uygun tedavisinin belirlenebilmesi açısından önemlidir. Fiziksel aktivite isteği genel olarak çevresel bir faktör olarak bilinse de, ikizlerde yapılan çalışmalar genetik faktörlerin önemli rol oynadığını ortaya koymuştur . yapılan çalışmalarda Lep reseptör geninin egzersiz düzeyini etkileyen faktörler arasında gösterilmiştir. Fiziksel aktivitede azalma, obezitenin en önemli risk faktörlerinden birisi olarak bilinmektedir ancak altta yatan genetik faktörler çok fazla bilinmemektedir. Çalışmamızda Lepr gen mutasyonlarının obezlerde fiziksel aktivite düzeyindeki etkisini göstermeyi amaçladık. Çalışmamızda bu genlerin fiziksel aktivite düzeyleri üzerindeki olası etkilerine ilave olarak vücut kompozisyon parametreleri VKI (Vücut kütle indeksi), yağsız kütle, yağ kütlesi (YK), aktivite enerji harcaması ve Dinlenik metabolik hız (DMH) üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Lepr geninin, aktivite düzeyi ile ilişkisini araştırmak için 66 obez/fazla kiolu hasta çalışmaya alınmıştır. Genomik DNA izolasyonu yanak içi epitel dokusundan yapılarak Lepr geni ekzon 6 ve intron 7'nin 446 bç bölgeleri PZR ile çoğaltılmıştır. Aktivite düzeyi Actical cihazının verileri üzerinden hesaplanmıştır. Dizi analizi kullanılarak Lepr genin mutasyonlarının antropometrik, DMH ve aktivite düzeyi parametreler ile ilişkisi araştırılmıştır. Ekzon 6'da Gln223Arg, intron 7' de rs12405556 ve rs11268683 polimorfizmleri saptandı. Egzersiz düzeyi ile polimorfizmler arasında herhangi anlamlılık bulunamamıştır. BMR ve rs12405556 arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

Fiziksel aktivite düzeyindeki değişiklikler ile DMH, Yağsız Y arasında anlamlı ilişki bulunamazken, YK, VKI ve aktivite enerji harcaması arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Aktivite düzeyi , Genetik , Obezite, DMH, VKI

2. SUMMARY

Genetic factors of exercise participation and their association with phenotypic traits (BMR and BMI) in Overweight / Obese Turkish women

Obesity is one of the fast spreading diseases. More than 30 % of our population are obese. 20% of men and 40% of women are considered obese. Many chronic diseases are known to be closely related to obesity. Therefore, treatment options and good knowledge of effects of obesity and its complications is important to determine the most appropriate treatment. Physical activity is known as an environmental factor but studies of twins have revealed that genetic factors play an important role. Studies have shown that Lepr gene is among the factors affecting physical activity level. Decreased physical activity is known to be the most important risk factors of obesity, but the underlying genetic factors are not known. In our study, we aimed to show the effect of Lepr gene mutations at the level of physical activity in obese. In our study in addition to the potential impact of Lepr gene on the physical activity levels the impact on body composition parameters Body mass index rate (BMI), Fat free mass (FFM), Fat mass (FM) as well as activity energy consumption and Basal metabolic rate (BMR) were investigated. To investigate the Lepr gene impact on physical activity level, 66 overweight/ obese women patient were included in our study. Genomic DNA was extracted from Buccal cells. Lepr gene regions of exon 6 and 440 bp of intron 7 were amplified by PCR. Physical activity levels calculated by data obtained via Actical accelerometer .

Gln 223Arg polymorphism in exon6 and rs12405556 ve rs11268683 were detected in intron 7. No relationship between physical activity levels and Lepr gene was noticed. We found that there was relationship between BMR and rs12405556. We also determined significant relationship between different physical activity levels with FM, BMI and activity energy expenditure while no association was found between FFM and BMR.

Key words: Physical activity, Genetic, Obesity, BMR, BMI

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Obezite; vücutta aşırı yağ depolanması ile ortaya çıkan, fiziksel, ruhsal sorunlara neden olabilen enerji metabolizması bozukluğudur. Tüm dünyada sıklıkla rastlanılan, genetik ve çevresel etkileşimleri olan tıbbi tedavi gerektiren ciddi ve kronik bir hastalıktır. Prevalansı son 30 yılda önemli oranda artış göstermiştir (1,2). Ülkemizde erkeklerin %20'si ve kadınların % 40'ı olmak üzere, toplumun %30'undan fazlası obezdir. Birçok kronik hastalığın obeziteyle yakından ilişkili olduğu bilinmektedir . Bu nedenle obezitenin etkenleri ve tedavi seçeneklerini iyi bilmek, obezite ve komplikasyonlarının en uygun tedavisinin belirlenebilmesi açısından önemlidir. Obezitenin en önemli risk faktörlerini, fiziksel aktivitede azalma, beslenme alışkanlıkları, yaş, cinsiyet (kadın), eğitim, evlilik, doğum sayısı ,ve genetik yapı oluşturmaktadır.(5,29).

Obezitenin ortaya çıkması için enerji alımının , enerji harcanmasından fazla olması gerekir, eğer bu enerji denge halinde olursa kiloda belirgin bir değişiklik olmaz.(1,10) Obezite pek çok değişik etiyolojik faktöre bağlı olabilir. Obezite, tek gen mutasyonlarına bağlı olarak ortaya çıkabildiği gibi çevresel faktörlere bağlı olarak da gelişebilir. Bu nedenle obeziteyi mutfaktoriyel hastalıklar arasında saymakta mümkündür (2,8).Bugüne kadar yapılan araştırmalarda obezite oluşumunda genetik faktörlerin % 25-40 oranında rol aldığı, obez kişilerin çocuklarının obeziteye yakalanma oranının sağlıklı bireylerin çocuklarına göre 2-3 kat fazla olduğu gösterilmiştir (2).

Obeziteye neden olan tek gen mutasyonları aşağıda belirtilmiştir:

Leptin (LEP)

Leptin reseptör (LEPR)

Prohormon konvertaz 11 (PC1)

Pro-opiomelanokortin (POMC)

Peroxisome proliferatör aktivated reseptör gama 2 (PPAR)

Melanokortin 4 reseptör gen (MC4-R) (2,7,10,8)

Obeziteyle ilişkili diğer genler aşağıda sıralanmıştır.

β 3-AR

Lipoprotein lipaz
Apolipoprotein D
Apo B
LDL reseptör
Dopamin reseptör D2
İnsulin gen
TNF
UCP1
UCP2
Acyl carrier protein-1
Adenozin deaminaz gen
Ob gen
IRS-1 (B)
ADD-1/SREBP-1c (2,7,10,8)

Bireyin günlük harcadığı enerji miktarı etkileyen 3 faktör vardır. Dinlenik metabolik hız, yiyeceklerin termik etkisi ve fiziksel aktivite.(9). DMH (Dinlenik Metabolik Hız) Vücut metabolizması, basitçe vücut hücrelerindeki tüm kimyasal reaksiyonları ifade eder. Metabolizma hızı da, tüm bu kimyasal reaksiyonlarda ısının serbestleşme hızını gösterir. Isı, vücutta serbest kalan tüm enerjinin son ürünüdür. Alınan enerjinin yalnızca % 27'si hücrelerin işlevsel sistemlerine ulaşır. Kalan büyük kısmı, protein metabolizması, kas aktivitesi ve çeşitli organlarla dokuların aktiviteleri sonucu açığa çıkan ısıya dönüşür. Kişinin varlığını sürdürebilmesi için gerekli enerji miktarına, “Dinlenik Metabolik Hız” adı verilir. Hareketsiz yaşam sürdürülmesi durumunda harcanan enerjinin % 50-70'i, dinlenik metabolizma için gerekli olan miktardır. Ortalama 70 kg'lık bir erişkinde, DMH saatte 65-70 kalori civarındadır. DMH'nın büyük kısmını, santral sinir sistemi, kalp, böbrekler ve diğer organların aktiviteleri oluşturur. İstirahatte iskelet kası aktivitesi, DMH'nın % 20-30'undan sorumludur.(9,10). Günlük enerji tüketiminin ana faktörü olan DMR, bireyler arasında farklılık gösterir. DMH' ı etkileyen temel faktörler arasında yaş, cinsiyet, hormonlar, uyku, ve malnutrisyon yer almaktadır (8,16). Her ne kadar günlük enerji tüketimini belirleyen DMH olsa da, DMH ile ilgili genetik faktörler yok veya yok denecek

kadar kısıtlıdır. Yapılan çoğu çalışma UPC2 , Lepr, NA-K-ATPASE genlerin DMH etkilediği yönündedir (3,11,13).

Yiyeceklerin termik etkisi, Vücutumuza gıda girdiği andan itibaren,vücut, besini sindirmek, depolamak ve hücrelere taşımak gibi gereksinimleri için belirli miktarda enerjiye ihtiyaç duyar. Bu enerjiye yiyeceklerin termik etkisi adı verilir.(9.10)

Fiziksel aktivite, azlığı günlük enerji alımı ve kullanımı arasında dengesizliğe neden olur. Yapılan çalışmalarda fiziksel aktivite düzeyi ile SGIP1, DNAS2B, PRSS16, ERCC2, LEPR genlerinde ki mutasyonlar ve polimorfizmlerin ilişkisini ortaya koymaktadır (7.1.2,15).

Ayrıca egzersiz düzeyi ile ilişkilendirilen genlerin metabolizmayı nasıl etkilediği ile ilgili literatür yoktur. Bu nedenle bu tezin amacı, Lepr gen mutasyonlarının obezlerde fiziksel aktivite düzeyindeki etkisini göstermek ayrıca bu mutasyonların fiziksel aktivite düzeyleri üzerindeki olası etkilerine ilave olarak vücut kompozisyon parametreleri (VKI, Yağsız K, YK vb), aktivite enerji harcaması ve DMH üzerindeki etkilerini de araştırmak.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Obezitenin Tanımı

Obezite (şişmanlık), vücudun yağ kütlelerinin, yağsız (kas) kütleyle oranının aşırı artması sonucu boya göre ağırlığın olması gereken düzeyin üzerine çıkmasıdır (18). Vücutta yağ depolanmasının sebebi, alınan enerjinin harcanan enerjiden fazla olmasıdır. Buna göre şişmanlık, alınan enerjinin fazlalığına, enerjinin az harcanmasına veya her ikisine birden bağlı olabilir.

Latince olan “Obesus” kelimesi ‘yemekten dolayı’ anlamındadır (19). Alınan enerjinin harcanandan fazla olması sonucu ortaya çıkan obeziteye ise basit (eksojen) obezite adı verilir (20).

4.2. Obezitenin Prevalansı

Gelişmiş ülkelerin birçoğunda yaygın olarak görülen şişmanlık, günümüzde gelişmekte olan ülkelerin de sorunu olarak önem kazanmıştır (21).

Dünya üzerinde 400 milyondan fazla obez yetişkin bulunmaktadır. Fazla kilolu yetişkin sayısı ise 1,6 milyarın üzerindedir (22) (Tablo1.1)

Türkiye Obezite Hipertansiyon Taraması (TOHTA) 1999–2000 yılları arasında Hüsrev Hatemi ve arkadaşlarının yürüttüğü, 11 ilde 23888 kişinin tarandığı kesitsel bir popülasyon çalışmasıdır. Çalışmada toplum genelinde fazla kilolu olma oranı %41.7, obezite prevalansı %25.2 bulunmuştur. 20 yaş üstü kadınların %33.9’sı, erkeklerin %44.4’sı fazla kilolu; kadınların %36.8’si, erkeklerin ise %21.6’sı obes bulunmuştur. Her iki cinste obezite prevalansı en fazla 51–60 yaş grubunda görülmektedir (23).

4.3. Obezitenin Ölçüm Yöntemleri

Obezitenin tanımlanması ve vücuttaki yağ miktarının ölçülmesi için direkt laboratuvar ölçümleri ve indirekt antropometrik ölçümler kullanılmaktadır.

4.3.1. Vücuttaki yağın direkt ölçümü

Toplam vücut potasyumunun ölçülmesi (K40), toplam vücut suyunun izotop dilüsyonu ile saptanması, izotop dilüsyonu ile diğer vücut sıvılarının saptanması, toplam vücut nitrojeni, vücut dansitesinin su altında tartım ve pletismografi yöntemleriyle ölçülmesi, ultrasound ile yağ kalınlığının ölçülmesi, toplam vücut

elektriksel geçirgenliği, biyoelektriksel impedans analizi (BIA), bilgisayarlı tomografi, nükleer magnetik rezonans, dual enerji X ışını absorbsiyometresi (DEXA) vücuttaki yağı direkt ölçme yöntemleridir. Vücuttaki yağı ölçmede kullanılan direkt laboratuvar yöntemlerinin kullanımı bilimsel çalışmalarla sınırlı kalmış, yaygın olarak klinik kullanıma girmemiştir. Bu yöntemler yaygın kullanımda pratik ve ekonomik olmadığı gibi, birçoğunun çocuk yaş grubunda kullanımı uygun değildir. Obezite yaygın bir sorun olduğu için değerlendirmede kullanılan metodun; ucuz, emin, kolay tekrar edilebilir olması idealdir (24).

4.3.2. Vücuttaki yağın indirekt ölçümü

Antropometrik ölçümler beslenme durumunun saptanmasında, protein ve yağ deposunun göstergeleri olmaları nedeniyle önemlidir. Tek bir ölçüm (yaşa göre ağırlık, yaşa göre boy uzunluğu, yaşa göre baş çevresi gibi) veya boy uzunluğu ve vücut ağırlığı, deri kıvrım kalınlıkları ve / veya çevre ölçümleri birlikte kullanılarak değerlendirilmektedir. Antropometrik ölçümler hızlı, uygulanması kolay, pratik ve ucuz yöntemler olmakla birlikte, kullanılan araçların düzenli olarak kontrol edilmesi, ölçüm yapan kişilerin sürekli eğitilmesi, referans değerlerin bulunması ve kesişim noktalarının belirlenmiş olması gerekmektedir (13). En sık kullanılan yöntemler, boy uzunluğu ve vücut ağırlığı, çevre ölçümleri, deri kıvrım kalınlıkları (DKK) ve VKİ'dir (24).

4.3.2.1 Boy uzunluğu ve vücut ağırlığı

Boy uzunluğu ve vücut ağırlığı ölçümleri obezite kliniklerinde ve saha araştırmalarında en çok kullanılan antropometrik ölçümlerdir. Boy uzunluğu, genelde vücut iskelet yapısı ve beslenme durumunun temel göstergesidir. Vücut ağırlığı ise basit ancak önemli bir morfolojik gösterge olup, büyüme hızı, obezite ve yetersiz beslenmenin saptanmasında kullanılır (24).

4.3.2.2. Beden kütle indeksi (Quetelet indeksi)

Obeziteyi belirlemek için Dünya Sağlık Örgütü, 1988'de Garrow tarafından tanımlanan Beden Kütle İndeksi'ni kullanmaktadır. VKİ, kilogram cinsinden ağırlığın metre cinsinden boyun karesine oranıdır. Yağlılığın basit yolla saptanmasında kullanılmakta olan VKİ yağlılığın indirekt iyi bir göstergesidir. VKİ'nin vücuttaki yağ miktarını %90'ın üzerinde doğrulukta gösterdiğini

kanıtlamıştır (24). Boydan nispeten bağımsız olduğu için yararlı bir indekstir. VKİ'nin uzunluk ile zayıf bir ilişkisi vardır. Bu nedenle farklı uzunluktaki kişilerin kilolarının karşılaştırılmasında kullanılır (25).

$$\text{VKİ} = \text{Ağırlık (kg)} / \text{Boy (m}^2\text{)}$$

Tablo 1.1. Fazla kilonun DSÖ sınıflandırması (26)

BKİ (kg/m ²)	DSÖ Sınıflandırması	Popüler Tanım
<18.5	Düşük kilolu	Zayıf
18.5–24.9	Normal	Normal
25.0–29.9	Preobes	Toplu, hafif şişman, fazla kilolu, aşırı kilolu
30.0–34.9	1. derece obes	Şişman, obes
35.0–39.9	2. derece obes	Aşırı Şişman
>40.0	3. derece obes	Morbid obes

4.3.2.3. Çevre ölçümleri

Çevre ölçümleri, vücut dansitesi, yağsız vücut dokusu, adipoz doku kitlesi, total vücut protein kitlesi ve enerji depolarının göstergesidir. Bunlardan üst orta kol, bel (abdominal), kalça, uyluk ve baldır çevreleri sıklıkla kullanılır (24).

Bel çevresi erkeklerde 94cm'in üzerinde; kadınlarda ise 80 cm'in üzerinde olduğu zaman kişilerde şişmanlığa bağlı metabolik risklerinde artış görülmektedir (27).

Bel kalça oranı erkeklerde 1.0'ın kadınlarda ise 0.8'in altında olmalıdır (28).

4.3.2.4. Deri kıvrım kalınlıkları

Deri altı yağ dokusunu, değişik bölgelerden ölçüm alınarak belirleme olasılığı vardır. Bu ölçümlerin toplamı, dansitometre ölçümleri ile korelasyon göstermektedir (24). DKK ölçümleri içinde; triseps, biseps, subskapular, suprailiak, baldır (medial) deri kıvrım kalınlıkları sık kullanılanlardır. Pediatrik yaş grubunda triseps deri kıvrım kalınlığı ile obezite derecesi arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir (24).

4.4. Obezitenin Etyolojisi

4.4.1. Yaş

Şişmanlık her yaşta görülmektedir. Günümüzde çocukluk çağı obezitesi önemli bir sorundur (32). Obez çocukların üçte biri, obez adolesanlarına ise %80'i erişkin yaşa ulaştıklarında da obez kalmaktadır (29). Yaşla şişmanlık artarak orta yaşta doruk düzeyini bulur. Kadınlarda genellikle 45–49 yaş arasında görüldüğü bilinmektedir. Şişmanlık 55 yaşından sonra azalmaktadır (30).

4.4.2. Cinsiyet

Şişmanlık kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir. Bunun en önemli nedenlerinden biri gebelik ve doğumlardır. Gebelikle alınan kiloların bir kısmı, doğumdan sonra verilemeyerek vücutta kalmaktadır. Gebelik süresince kadın yaklaşık 12 kg kadar alır. Bunun 30 'ü yağlanmadır. Kadınların daha kolay kilo almalarının bir nedeni Östrojenin yağ dokusunu artırma etkisidir (30).

4.4.3. Beslenme alışkanlıkları

Beslenme, insanın var olmasıyla başlayıp günümüzde de üzerinde durulan konuların başında gelmektedir. Bireylerin fiziksel, ruhsal, sosyal yönlerden gelişmiş, sağlıklı, üretken olabilmeleri için önde gelen faktörlerden biri yaş, cinsiyet, çalışma ve fizyolojik durumlarına göre gereksinmeleri olan besin öğelerini yeterli miktarda sağlayabilmeleri diğer bir deyişle yeterli ve dengeli beslenmeleridir (31).

Dengesiz beslenmenin ortaya çıkardığı sağlık sorunlarından en önemlisi olan şişmanlık, optimal vücut fonksiyonu için gerekenden fazla yağ depolanması ile karakterize edilen patolojik bir durumdur (32).

Beslenme alışkanlıkları şişmanlık gelişiminde rol oynamakta olup, şişmanların, şişman olmayanlara göre daha az gıda aldığını belirten araştırmalar da bulunmaktadır. Şişmanlıkta en önemli faktör fazla yeme davranışdır ve iştah beslenme kültürü ile ilgili olup, bireyi alıştığı besini ve pişirme yöntemini seçmeye yöneltmektedir (32).

Laboratuvar çalışmaları ile bazı araştırmacılar, şişmanların acıkma ve doyma duyularına göre yemek yemekten çok, tat zevkine, çevrenin etkisine ve psikolojik faktörlere göre yemek yediklerini belirtmişlerdir. Şüphesiz herkesin iştahında bu faktörlerin rolü vardır, ancak şişmanlama eğilimli kimselerde bu faktörler doyma duygusunu örtebilmektedir (32). Dünyada ve ülkemizde şişmanlığın tedavisinde

kullanılmak üzere çeşitli diyetler geliştirilmiştir. Bunların bazıları uygun ve kalıcı bir zayıflama sağlarken, bazıları halkı yanıltmakta ve çeşitli sağlık sorunlarına zemin hazırlamaktadır (32).

4.4.4. Sosyoekonomik düzey

Şişmanlık, genellikle gelişmiş ve zengin toplumlara özgü bir beslenme bozukluğudur. Ancak bazı durumlarda karbohidratlı besinler karın doyurucu ve ucuz olmaları nedeniyle düşük sosyoekonomik gruplar tarafından daha fazla tüketilmekte, bu gruplardaki şişmanlığın nedenini oluşturmaktadır (18). İstanbul'da yapılan bir araştırmada şişmanlığın düşük sosyoekonomik düzeydeki insanların sorunu olduğunu saptanmıştır (32).

Sosyoekonomik düzeyi yüksek gruplardaki şişmanlıkta, teknolojinin gelişmesine bağlı fiziksel aktivitenin yetersizliği, gıda teknolojisinin gelişmesi ile konsantre hazır gıdaların seçimi, beslenme alışkanlıklarının değişmesi kısaca yaşam biçiminin değişmesi şişmanlığın esas nedenlerini oluşturmaktadır. Sosyoekonomik düzeyi düşük gruplarda ise özellikle uygun besin bulabilme olanaklarının kısıtlı olması kişileri tek yönlü beslenmeye yönelttiğinden şişmanlık sıklığı artış göstermektedir (32,29).

Gelişmiş ülkelerde şişmanlığın düşük sosyal sınıftaki çocuklarda, adolesanlarda ve erişkinlerde yüksek sosyal sınıfa göre daha fazla görüldüğünü belirten araştırmalar vardır. Bu da bireylerin eğitimle geliştirdikleri değer yargılarından ileri gelmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde de şişmanlık sıklığı artmaktadır.

4.4.5. Piskolojik durumlar

Stresin hipotalamik hipofizer adrenal aksiste ve kortizol üretiminde etkisi olduğu ve obezite etiyolojisinde rol oynayabileceğine dair bulgular bulunmaktadır (33). Obezitede psikosomatik görüş, obezitenin emosyonel uyarılara yanıt olarak ortaya çıkan aşırı yemeye başlı olduğudur. Öfke, korku ve endişe gibi uyarıcı durumlarda en sık gelişen yanıt iştah kaybıdır, bazı bireylerin daha fazla yiyerek tepki verdikleri öne sürülmektedir. Yeme, emosyonel durumu modifiye eder; örneğin anksiyeteyi azaltır. Bu nedenle aşırı yeme, bir dayanma yanıtı ya da aktivasyon ve stres ile ilişkili iç etkilerden kaynaklanan ipuçları ve doğal açlık ile ilgili

ipuçlarındaki karışıklığın sonucu olarak düşünebilecek, öğrenilmiş bir davranıştır (34).

4.4.6. Sigara ve alkol

Erlere üzerinde yapılan bir çalışmada sigara kullanımı ile obezite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken, haftada bir ve daha sık alkol kullananlarda hafif kilo ve obezite prevalansı diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (46). Alkolün iştahı uyaran özellikleri ve yemekle alınan alkolün, yüksek enerji alımı ile ilgisi olduğu, en azından, alkol alınan özel günlerde besin tüketiminin arttığı da bilinmektedir (27).

4.4.7. İlaç kullanımı

İlaç kullanımına bağlı obezite nedenleri; psikotropik ilaçları, antikonvülsan ajanları, steroid hormonları, insülin ve birçok oral hipoglisemik ajanları içermektedir (37).

4.4.8. Genetik

Obez ebeveynlerin çocukları obez olmayanların kine göre daha fazla risk altındadır (38). Her iki ebeveyn obez ise, çocuğun obez olma olasılığı %80, sadece biri obez ise %40, her ikisinde obez değilse %14 oranında bulunmuştur (39). İkizlerde yapılan çalışmalarda, obezite-genetik yatkınlık düşüncesini desteklemektedir. Monozigot ikizlerden biri obez ise diğerinin obez olma olasılığı, dizigot ikizlere göre daha fazladır. Monozigot ikizlerde VKI neredeyse benzer olup, bu durum ağırlık kontrolünde genetiğin rolünü gösterir. Evlat edinilen çocukların yağ dağılımının ve VKI'lerinin kendi anne-babalarına benzediği de gösterilmiştir (40).

Obezitenin genetik bağlantısı hakkında yapılan çalışmalarda obez fenotipi ile bağlantılı olabilecek bazı kromozomlar belirlenmiştir. Ancak, son zamanlarda yapılan çalışmalar daha çok obezitenin gelişmesinde etken olabilecek tek gen ve fonksiyonları üzerine yoğunlaşmıştır (41). Sendromlar ve diğer nedenler dışında tek gen kusurları son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan konular olmuştur. Bu genler arasında Lepr geninin anlamlılık oranı ($p \leq 0.0005$) değişik çalışmalar ile ortaya konulmuştur (42).

Açlık, tokluk, lipogenez, lipolizden; ayrıca büyüme ve üremeden sorumlu hormon kompleksleri ve nörotransmitterlerin (büyüme hormonu, leptin, grelin, nöropeptit Y, melanokortin ve diğerleri) genetik temellerindeki farklılıklarının

bilinmesi obezitenin risklerinin anlaşılmasını ve daha etkili tedavilerin yapılmasını sağlayabilir (42).

4.4.9. Fiziksel aktivite

Fiziksel inaktivite, obezite gelişmesinin en önemli nedenini oluşturmaktadır. Obezitenin başlamasında fiziksel inaktivitenin sorumluluk payının %67.5 gibi yüksek bir oranlarda olduğu tespit edilmiştir. Modern toplumlarda daha az enerji harcanarak işlerin yürütülme imkanı, vücudun kullanamadığı bu enerjiyi yağ olarak biriktirmesine neden olmaktadır (43,44). Bireyin enerji gereksinimini; dinlenik metabolizma hızı, fiziksel aktivite ve termik etki (termogenesis) belirler. Dinlenik metabolizma hızı; 24 saat süresince herhangi bir fiziksel aktivite yapmadan, istirahat pozisyonunda vücudumuzun harcayabileceği kalori miktarını belirtir. Enerjinin büyük kısmı dinlenik metabolizma için harcanmaktadır (45). Dinlenik metabolizma hızı = $500 + 22 \times \text{ya}_{\text{sız}} \text{ vücut kitlesi (LBM)}$ formülü ile hesaplanabilir (46). Obezlerde fiziksel aktivitenin azalmasına bağlı olarak enerji harcaması da azalır. Obezlerde termik etki, normal bireylere göre daha düşüktür (45).

Her ne kadar günlük enerji tüketimini belirleyen DMH olsa da, DMH ile ilgili genetik faktörler yok veya yok denecek kadar kısıtlıdır. Bu konuda yapılan çalışmalar Lepr geninin etkisini ortaya koymuştur. (19)

4.4.9.1. Leptin

Zhang ve ark tarafından 1994 yılında keşfedilen *leptin*, sitokinlere benzeyen ve 167 amino asit içeren protein yapısında bir hormondur. İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan (7q31) ob/ob geninde kodlanmıştır. 3 exon ve 2 introndan oluşur (47). Vücutta başlıca adipoz (yağ) dokuda sentezlenen leptinin az miktarda plasenta, gastrik epitelyum, iskelet kası, hipofiz ve meme bezi tarafından da salgılandığı gösterilmiştir. Kanda iki formda bulunur; serbest ve proteine bağlı. Leptinin aktivitesinden serbest formunun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda obez bireylerde serumdaki leptinin büyük kısmının serbest formda olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda obez kişilerde serbest leptin formunun artışının tespit edilmesi, obezite gelişiminde asıl sorunun leptin eksikliği değil, leptin direnci olduğu hipotezini destekleyen kanıtlardan biri olarak görülmektedir (47). Örneğin çoğunlukla tip II diyabette olduğu gibi reseptör ve intraselüler sinyal bozuklukları obez bireylerde leptin direncinden sorumlu olabilir. Leptin enerji alımı veya

harcanmasını, nöroendokrin fonksiyonu düzenleyen birkaç nörepeptidin ifadesini değiştirmek için hipotalamustaki spesifik reseptörlere bağlanarak çalışır.

Leptin iştahın güçlü bir stimülatörü olan hipotalamik nöropeptid Y (NPY)'nin sentezini engeller. Dahası NPY'nin azaltılması enerji harcanması ve sempatik sinir sistemi çıkış akımının artmasıyla sonuçlanır. Leptin direkt olarak lipid oksidasyonunu arttırması ile birlikte yağ asidi ve trigiliserit sentezini azaltarak intraselüler lipid artışını engeller. Lipid metabolizmasına etkisi, yağ asiti sentezinde enzim hızını sınırlayarak, asetil CoA karboksilaz aktivitesini engelleyen bir etki olabilir (47).

4.4.9.2 Leptin reseptör geni

Leptin reseptörü, sitozolik transkripsiyon aktivatörü (STAT) proteinlerinin aktivasyonu yoluyla gen transkripsiyonunu uyardığı bilinen gp130 sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir (<http://www.omim.org/entry/164160>,2013). Leptin reseptörü OB-Rb (uzun reseptör) ve OB- Ra (kısa reseptör) olarak 2 alternatif kırılma (splicing) izoformuna sahiptir (47). Biyolojik olarak aktif olanlardan birisi Ob-Rb izoformu sinyal transdüksiyonu kapasitesine sahiptir ve hipotalamusta (nükleus arkuatus) bol olarak ifade edilir. OB-Ra ise intraselüler sinyal için gerekli olan segmentleri tümünü taşımazlar ve bu nedenle sinyal iletiminde rolleri çok az veya yoktur. OB-Ra reseptörlerinin bulunduğu başlıca dokular böbrek, akciğer, pleksus koroideus ve beyin kapillarlarıdır. Son ikisinde OB-Ra reseptörlerin bol bulunması bunların leptinin merkezi sinir sistemine transportunda önemli görevleri olduğunu düşündürmektedir (47).

Leptin reseptör geninin OB-Rb formu 70 kb' dır ve 20 exon içerir. LEPR reseptörü protein yapısına göre ekstraselüler, transmembran ve intraselüler bölgelerden oluşur. LEPR geninde birkaç fonksiyonel önemli domain vardır. Ekstraselüler bölgede ligand bağlanmasını sağlayan iki sitokin motifi (GXWSXWS) içerir. Intraselüler bölge hipotalamusta STAT ve Janus-aktive kinazla (JAK) etkileşen diziler bulundurur (47)

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Çalışma Grubu

Çalışma gurubuna ait örnekler, Marmara Üniversitesi Hastanesi Spor Fizyolojisi Bilim Dalın'a başvuran 25 – 48 yaşları arasında obez/ fazla kilolu teşhisi konulan hastalardan temin edildi. ($VKİ \geq 25$) . Hastalar kendi aralarında Actical cihazının ve DMH ölçümlerinin verilerinden elde edilen bilgilere göre önce fiziksel aktivite düzeyi az ve altı ($FAD \leq 1.55$) orta ve üstü ($FAD \geq 1.56$) olarak iki gurub'a ayrıldı. Daha sonradan aktivite düzeyini daha iyi belirlenebilmesi için hastalar fiziksel aktivite düzeylerine göre üç gruba, çok az ($FAD \leq 1.40$), az ($1.41 \leq FAD \leq 1.55$), orta ve üstü ($FAD \geq 1.56$) olarak ayrıldı. (48) .

Herhangi kronik rahatsızlığı olan, antidepresan ilaç kullanan, sigara ve alkol tüketen, herhangi hastalıktan dolayı özel ilaç tedavisi gören , vitamin veya mineral desteği alan hastalar çalışmaya alınmamıştır.Hastalar ko-morbidite açısından kontrol edilmiştir.

5.2. Ölçümler ve Hesaplamalar

5.2.1. Genetik testler

5.2.1.1. Kullanılan aletler

Agaroz Jel Elektroforez Güç Kaynağı, ATTO (Japonya)
Agaroz Jel Tankı ve Düzeneği (Mini), Biometra (Almanya)
Buzdolabı, Arçelik (Türkiye)
Derin Dondurucu -80 °C Thermo (A.B.D)
Derin Dondurucu -20 °C Bosch (Almanya)
Etüv, Heraeus (Almanya)
Hassas Terazı, Mettler AT 261 (İsviçre)
Isı Döngü Cihazı, Techne (İngiltere)
Jel Dokümantasyon Sisstemi, Synergene Genius (İngiltere)
Kırık Buz Makinası, Scotsman (A.B.D.)
Laminar Flow, Özge A.Ş (Türkiye)
Manyetik Karıştırıcı, Elektro-Mag (Türkiye)
Mikrosantrifüj, Mikro 120 Hettich (Almanya)
Otoklav, All American (A.B.D)

Otomatik Mikropipetler, Gilson (Fransa)
PH Metre, WTW (Almanya)
UV Kaynağı, Vilber Lourmat (Fransa)
Spektrofotometre, Unicam 8625 (İngiltere)
Vorteks, Elektro-Mag (Türkiye)

5.2.1.2. Kullanılan kimyasallar

Agaroz, Prona
Borik asit, Sigma (A.B.D.)
Brom fenol mavisi, Sigma (A.B.D.)
dNTP set, MBI Fermentas (Litvanya)
EDTA, Merck (Almanya)
Etanol, Merck (Almanya)
Etidyum bromür, Sigma (A.B.D.)
Gliserol, Sigma (A.B.D.)
Hidrojen Klorür (HCl),
Ksilen siyanol, Sigma (A.B.D.)
Proteinaz K, Roche (İsviçre)
NaCl, Sigma (A.B.D.)
Taq DNA Polimeraz Enzim Seti, MBI Fermantas (Litvanya)
Tris, Sigma (A.B.D.)
50 bp Step Ladder, DNA belirteç, MBI Fermantas (Litvanya)
100 bp Step Ladder, DNA belirteç, MBI Fermantas (Litvanya)
Primerler, Integrated DNA Technologies (A.B.D.)

5.2.1.3. Kullanılan ticari kitler

Buccal DNA izolasyon kiti: Gentra Purgene Kit, Qiagen (İsviçre)

5.2.1.4. Kullanılan primerler

Primerler liyofilize formda alınıp steril distile su ile sulandırılarak ana stok oluşturulmuş ve -20°C'de saklanmıştır. PZR reaksiyonlarında bu stoklardan hazırlanan 10 pmol/µl konsantrasyonundaki çözeltiler kullanılmıştır.

PZR için kullanılan primerler:

<i>Lepr</i> gen Bölgesi	Primer Dizisi (5'→3')
Ekzon 6	5'-primer: 5'- ACC CTT TAA GCT GGG TGT CCC AAA TAG -3'

	3'-primer: 5'- AGC TAG CAA ATA TTT TTG AAG CAAT -3'
İntron 7	5'-primer: 5'- ATT GCA GTG CTC CAT ATA CCTA -3'
	3'-primer: 5'- TCA CAA AGT AAA GTG CCA AAGT -3'

Dizi analizi için kullanılan primerler:

Lepr gen Bölgesi	Primer Dizisi (5'→3')
Ekzon 6	5'-primer: 5'- ACC CTT TAA GCT GGG TGT CCC AAA TAG -3'
	3'-primer: 5'- AGC TAG CAA ATA TTT TTG AAG CAAT -3'
İntron 7	5'-primer: 5'- ATT GCA GTG CTC CAT ATA CCTA -3'
	3'-primer: 5'- TCA CAA AGT AAA GTG CCA AAGT -3'

5.2.1.5. Kullanılan kimyasal çözeltiler

Çalışmada kullanılan kimyasal çözeltiler aşağıda belirtildiği şekilde hazırlandı:

5.2.1.5.1. PZR

10X Reaksiyon Tamponu:

500mM Tris-HCl (pH8.8), 160 mM (NH₄)₂SO₄, %0.1 (h/h) Tween20, 1.5mM MgCl₂ içeren reaksiyon tamponu Fermentas (Litvanya) firmasından Taq DNA Polimeraz seti ile temin edilmiştir.

10mM dNTP:

Her biri 100 mM olan dATP, dTTP, dCTP, dGTP solüsyonlarından 10'ar µl alınarak karıştırıldı ve üzerine 60 µl steril dH₂O eklenerek hazırlandı.

5.2.1.5.2. Agaroz jel elektroforezi

10X TBE (1Lt):

54 g Tris-HCl

27 g Borik Asit

20 ml 0.5M EDTA (pH 8.0)

Distile su içinde çözülerek 1000 ml'ye kadar dH₂O ile tamamlandı.

Jel Yükleme Tamponu:

% 0.25 (a/h) Bromfenol mavisi

% 0.25 (a/h) Ksilen siyanol FF

% 30 (h/h) Gliserol

Etidyum Bromür stok solüsyonu:

10 mg/ml etidyum bromür

5.2.1.6. Kullanılan bilgisayar programları

Dizi analizi sonuçlarının değerlendirilmesinde FinchTV 1.4.0 programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmeler Veriler bilgisayarda SPSS 21.0 (Statistical Packages of Social Sciences) programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Açıklayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama \pm standart sapma şeklinde kategorik değişkenler için frekans ve yüzde şeklinde gösterildi. Bağımsız iki grubun normal dağılıma uyan verilerinin karşılaştırılmasında iki bağımsız örneklem t testi, normal dağılıma uymayan verilerinin karşılaştırılmasında Mann-whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farkın analizi için ki-kare testi ve yerine göre Fisher kesin olasılık testi ile yapıldı. İki'den fazla grubun normal dağılıma uyan değişkenlerinin karşılaştırılmasında ANOVA testi, ikili karşılaştırmaları için ise Tukey testi kullanıldı. $P < 0,05$ olması durumunda aradaki fark anlamlı kabul edildi.

Tez yazımında, tablo ve şekillerin hazırlanmasında Microsoft Excel, Word ve Powerpoint 2007 programları kullanıldı.

5.2.1.7. Yanak epitel dokudan DNA izolasyonu

Yanak epitel dokudan DNA izolasyonu Gentra Purgene Kit ile üretici firmanın protokolü doğrultusunda yapıldı. Konsantrasyonları Nanodrop cihazı ile ölçülmüştür.

Yanak epitel dokudan DNA izolasyonu protokolü;

- 1- Yanak epitel hücreler , kit ile birlikte gelen özel takas yardımı ile , yanak içinde ortalama 10 kere dairesel hareketler ile toplandı.
- 2- 1.5 µl ependorfa 300 µl Lysis solution eklendi. Toplama takasları başlarından setril bistüriler ile kesildi, ependorfun içine konuldu.
- 3- 1.5 µl Purgene Proteinaz K eklendi, 25 kere ters çevrilerek karıştırıldı. 55°C gece boyunca inkübe edildi.
- 4- Toplama takası ependorfun kenarlarına olabildiğince sıvı elde etmek için, bastırılarak, çıkartıldı.
- 5- 100 µl Protein Percipitation Solution eklendi, ve 20 s şiddetli vorteks edildi.

- 6- 5 dk buz üzerinde bekletildi.
- 7- 14,000 rpm' de 3 dakika santrifüj edildi.
- 8-Yeni 1.5 ml ependorfa 300 µl İsoopropanol ve 0.5 µl Glycogen solution koyuldu, üzerine süpernatant eklendi.
- 9-50 kere ters çevrilerek karıştırıldı.
- 10- 5 dakika 14,000 rpm' de santrifüj edildi.
- 11-Süpernatant dikkatli bir şekilde atıldı, peletlerin kuruması için temiz absorbans kağıdı üzerine ters çevrilerek kurutuldu.
- 12- 300 µl , %70 ' lik Etanol eklendi, bir kaç kere ters çevrilerek DNA peletler yıkandı.
- 13- 1 dakika 14,000 rpm ' de santrifüj edildi.
- 14- Süpernatant atıldıktan sonra , 5 dakika boyunca temiz absorbans kağıdı üzerinde ters çevirerek peletin kuruması sağlandı.
- 15- 100 µl DNA Hydration Solution eklendi. 5 dakika boyunca orta şiddet 'de vorteks edildi.
- 16- 1 saat boyunca 65°C de inkübasyon edildi.
- 17- Gece boyu orta dereceli shaker'da oda sıcaklığında inkübe edildi.

5.2.1.8. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

1988'de Kary Mullis tarafından geliştirilmiş olan polimeraz zincir reaksiyonu, bir DNA dizisinin tamamen *in vitro* koşullarda oluşturulan kimyasal reaksiyonlar ile istenilen miktarlarda çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlar. PZR reaksiyonunda üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürünün miktarı, teorik olarak, bu üç adımın tekrarlanma sayısına bağlıdır.

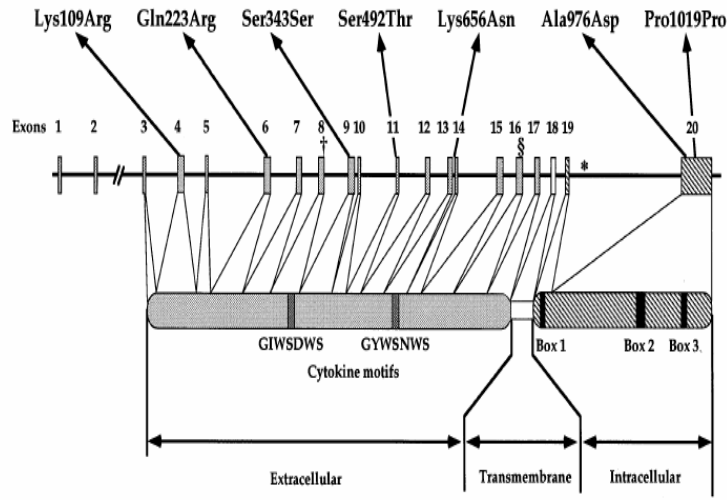
PZR analizindeki basamaklar şunlardır:

- 1- Denatürasyon (Denaturation): Çift iplikli kalıp DNA'ya ait baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları yüksek ısıda (94°C ve civarı) iki iplik halinde ayrılır.
- 2- Eşleşme (Annealing): Sıcaklık 50-70°C arasında bir değere düşürülür ve primerler, çoğaltılacak bölgenin uçlarında yer alan kendilerine özgü dizileri tanıyarak hidrojen bağları ile bağlanırlar.
- 3- Uzama (Extension): PZR'nun üçüncü basamağı olan primerlerin uzatılması aşamasında sıcaklık 72°C'de kalır. Bu sıcaklık DNA polimeraz enziminin ısıya dayanıklı bir şekli olan Taq polimeraz aracılığı ile yeni DNA'nın sentezlenmesi için

en uygun sıcaklıktır. Polimeraz enzimi, nükleotidleri 5' den 3' ne doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın iki zincirli kopyasını oluşturur.

Bu üç basamağın bitiminde bir döngü tamamlanır; 35 döngü sonunda milyonlarca kopya üretilmiş olur (49)

PZR yöntemi ile şekilde gösterilen Lepr geninin ekzon6 ve intron 7'nin 4933 pozisyonunda lokalize olan rs12405556 polimorfizminin kapsayacak şekilde 446 bç bölge çoğaltıldı. (Şekil 5.1) .



Şekil 5.1. PZR ile çoğaltılan Lepr genine ait DNA bölgeleri (Ekzon 6 ve Intron7)

Bu amaçla PZR reaksiyon karışımları hazırlandı.

Reaksiyonlarda kullanılan PZR içeriği Tablo 5.1'de verilmiştir.

Tablo 5.1. Standart olarak kullanılan bir PZR örneği.

<i>1X (µL)</i>	<i>Reaksiyon İçeriği</i>	<i>Final Konsantrasyon</i>
5	10X PCR Buffer	1X
3	25 mM MgCl ₂	1.5 mM
1	10 mM dNTPs	200µM
1,5	Primer ileri (10pm/µl)	15 pmol
1,5	Primer geri (10pm/µl)	15 pmol
0,1	Taq DNA pol (5U/µl)	0.5 ünite
35,9	dH ₂ O	-
48 µl Reaksiyon karışımı		
2	genomik DNA	100-300 ng
50 µl Toplam hacim		

Bu işlem 0.2 veya 0.5 ml'lik eppendorf tüplerinde ve buz üzerinde gerçekleştirildi ve tüpler ısı döngü cihazına yerleştirilerek belirlenen program uygulandı.

Ekzon 6 bölgesi için PZR döngü programı olarak:

94 °C'de 5 dakika ön denatürasyon	}	35 döngü
94 °C'de 1 dakika.....(denatürasyon)		
56 °C'de 1 dakika..... (eşleşme)		
72 °C'de 1 dakika.....(sentez)		
72°C'de 5 dakika final uzaması olarak uygulandı.		

Intron 7 bölgesi için PZR döngü programı olarak:

94 °C'de 5 dakika ön denatürasyon	}	35 döngü
94 °C'de 1 dakika.....(denatürasyon)		
61 °C'de 1 dakika..... (eşleşme)		
72 °C'de 1 dakika.....(sentez)		
72°C'de 5 dakika final uzaması olarak uygulandı.		

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrası elde edilen, Lepr geni Ekzon 6 bölgesi için 416 bç, Intron 7 bölgesi için 446 bç uzunluğundaki ampliconlar agaroz jel elektroforezi ile incelendi.

5.2.1.9. Agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi, DNA parçalarının ayrılması ve tanımlanmasında kullanılan standart bir metottür. Agaroz jel elektroforezi ile yaklaşık 60 - 0.1 kb uzunluğunda DNA parçaları ayrılabilir. Agaroz konsantrasyonu ayarlanarak jelde moleküllerin hareket ettiği porların çapı değiştirilebilir. Böylece küçük DNA parçalarını yürütmek için yüksek, büyük DNA parçalarını yürütmek için ise düşük agaroz konsantrasyonları kullanılmaktadır. Jeldeki DNA bantları, jelin bir floresans boya olan etidyum bromür ile boyanması ve jelin mor ötesi (UV) ışık altında direkt olarak incelenmesi ile saptanabilir. Bilinen büyüklükteki bir belirteç (marker) DNA kullanılarak çalışılan DNA'nın moleküler büyüklüğü kolayca saptanabilir. Agaroz jel boyunca DNA parçacıklarının elektroforetik göç (migrasyon) hızları temel olarak dört parametreye bağlıdır. Bunlar; DNA'nın moleküler büyüklüğü, agaroz konsantrasyonu, DNA'nın konformasyonu ve uygulanan akımdır (49).

PZR ile çoğaltılan ürünlerin tanımlanması için agaroz jel elektroforezi uygulandı ve bu amaçla % 2'lik agaroz jel hazırlandı. Agaroz jel 1X TBE tamponunda kaynatıldı ve çözeltiye DNA'nın UV ışık altında görüntülenebilmesi için 0.25 µg/ml EtBr ilave edildi. Jel kalıbının üzerine yeterli sayıda kuyucuk oluşturacak tarak yerleştirildi ve jel kalıba dökülerek iyice polimerize olana kadar oda sıcaklığında bekletildi. 5 µl PZR ürünleri 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak kuyucuklara yüklendi. 50 veya 100 bp'lik belirteç DNA'lar kullanıldı. Elektroforez 100 V/50 mA olacak şekilde uygulandı. Yaklaşık 40 dakika sonra incelenen jelde UV altında etidyum bromür sayesinde ışığa veren PZR bantları gözlenerek standart belirteçle karşılaştırıldı.

5.2.1.10. DNA dizi analizi

DNA dizi analizi için, kimyasal ve enzimatik olmak üzere iki temel yöntem vardır: Allan Maxam ve Walter Gilbert'in kimyasal yöntemi DNA'nın belirli dizilerden kırılmasına dayanırken Fred Sanger ve arkadaşlarının geliştirdiği ikinci yöntemde ise belirli bir bazda sonlanan bir DNA zinciri sentezi gerçekleştirilmektedir. Her iki yöntemde de dizisi saptanacak DNA'ya dört ayrı reaksiyon uygulanmaktadır (her baz için bir tane). Bu dört reaksiyonun ürünleri bir nükleotit uzunluğu kadar farklı, bir dizi DNA parçacıklarıdır. Dört reaksiyonun ürünleri bir jelde, dört ayrı kuyucukta yan yana elektroforez ile ayrıştırılmaktadır. Jel hattındaki her bir bant belirli bir baza karşılık gelmektedir ve jeldeki bantlardan DNA parçacığının dizisi okunabilmektedir (50).

Enzimatik DNA sentezine dayanan Sanger'in DNA dizi analizi yönteminde, dizisi saptanacak olan DNA zinciri yeni sentezlenecek DNA zinciri için kalıp olarak kullanılır. Sentez reaksiyonu DNA polimeraz I ile kataliz edilir. Yöntemde, modifiye dideoksinükleotit trifosfatlar kullanılarak bir dizi DNA parçacıkları elde edilir. Dideoksinükleotit trifosfatlarda 3'-OH grubu bulunmaz. Bu durumda, molekül yeni sentezlenen DNA'ya katılır, ancak 3'-OH grubu taşımadığı için kendisine nükleotit ilave edilemez ve zincir sentezi sonlanarak bir DNA parçacığı elde edilir. Zincir sonlanması için dört reaksiyon tüpünde farklı bir dideoksinükleozit trifosfat bulunur. Reaksiyonların her birinde çok az miktarda modifiye nükleozit kullanıldığı için yeni zincir rasgele sonlanarak bir dizi DNA parçacığı meydana gelir (50).

Günümüzde enzimatik ve kimyasal yöntemler olarak bilinen klasik yöntemlerin dışında DNA bölgelerinin dizi analizi için otomatik sistemler de kullanılmaktadır. Otomatik DNA dizi analizi, Sanger tarafından geliştirilen enzimatik sentez yönteminin gelişmiş bir kapiller sisteme uyarlanmış halidir. Boya terminasyon işaretleme adı verilen bir yöntem kullanılarak farklı bazlarla (A, G, T, C) sonlanan DNA sentez ürünlerine floresan işaretli boyalar eklenir. Reaksiyon karışımı amplifikasyon sonrası kapiller jelle yüklenir ve bazlar bir floresan dedektör vasıtasıyla saptanır. Floresan işaretli boyaları uyarmak için bir lazer, boyaların yaydığı ışığı toplamak için ise bir CCD kamera kullanılır. Böylece, lazer uyarımının ardından dört boya tarafından yayılan farklı dalga boylarındaki ışık tek kulvarda ayırt edilebilir. Kullanılan bilgisayar programları vasıtasıyla elde edilen veriler renkli kromotogram dosyalarına çevrilir. Bu dosyalarda her bir baz kendisine özgül olan bir renk eğrisi ile gösterilir (A:yeşil, T:kırmızı, C:mavi; G:siyah). Floresan miktarlarının ölçülmesi ve yorumlanmasının ardından DNA örneğindeki baz dizisi saptanır (50).

DNA dizi analizi ticari bir firmada, ABI PRISM 310 Genetic Analyzer DNA dizi cihazı ile kapiller sistemde, Sanger tarafından geliştirilen enzimatik sentez yöntemi ile DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham) kullanılarak yapıldı.

5.2.2. Fizyolojik ölçümler

5.2.2.1. Vücut kompozonu ve VKİ ölçümleri

Vücut kompozisyonu ölçümünde Tanita marka bioelektrik empedans analizi (BIA) kullanılmıştır.

BAI tekniği vücuda 54 Mhz.' lik elektrik akımının verilmesi sonucunda vücudun akıma karşı direncini ölçer. Yağsız vücut ağırlığının fazla olması aynı zamanda su miktarının da fazla olması anlamına gelmektedir. Elektrik akımları su içerisinde daha hızlı hareket eder. Yağ oranı vücutta fazla ise elektrik akımının karşılaşacağı dirençte fazlaşır.(51)

Bu metot, vücut kompozisyonunu bulmak için hızlı ve pahalı olmayan bir metottur. Bu metotta, düşük seviyede bir elektrik akımı kişinin vücudunun içinden geçer ve empedans (Z) veya elektrik akımının tersi BIA analizörü tarafından ölçülür.

Empedans ölçümünden, kişinin vücut suyu (TBW) hesaplanır, çünkü vücut suyundaki elektrolitler, elektrik akımının mükemmel iletkenleridir. TBW hacmi çok olduğundan, elektrik akımı az bir dirençle (R) vücuttan kolayca geçer. Adipos doku, nispi az su hacmiyle elektrik akımının zayıf iletkeni olduğu sürece, elektrik akımına karşı direnç, çok miktarda vücut yağı olan kişilerde büyük olur. Çünkü yağsız vücut kütlesi unsurunun su hacmi nispi şekilde büyüktür (yaklaşık % 73 su), Yağsız K ,TBW hesaplamasından önce bilinebilir. Çok Yağsız K ve TBW olan bireyler, az Yağsız K olanlardan daha az dirençle vücutlarına akımı iletirler. (52)

Hastaların boy ölçümleri ayakkabıları çıkartılarak, sırtları düz şekilde , duvara monte edilmiş mezura ile ölçüldü.

Hastalar Tanita cihazının üzerine yalın ayak çıkartılıp, boy ve cinsiyet , hasta tipi ve standart özelliklere sahip kişiler için yağ oranı miktarı girildikten sonra, hastaların cihazın kollarını tutarak, beklemeleri istendi. Çıkan çıktıda hastanın YK, Yağsız K, VKI özellikleri verilmekteydi.

VKI \geq 24.9 olan hastalara fazla kilolu/ obez sınıfı kabul edildi.

5.2.2.2. Dinlendik metabolik hız (DMH) ölçümü

Ölçüm Cosmed adlı cihazla ölçüldü. Cihaz solunum yolu ile alıp verilen O2 ve CO2 miktarına göre, bireyin yaşı ve kilosunu uygun olarak dinlenik metabolik hızını ölçmektedir.

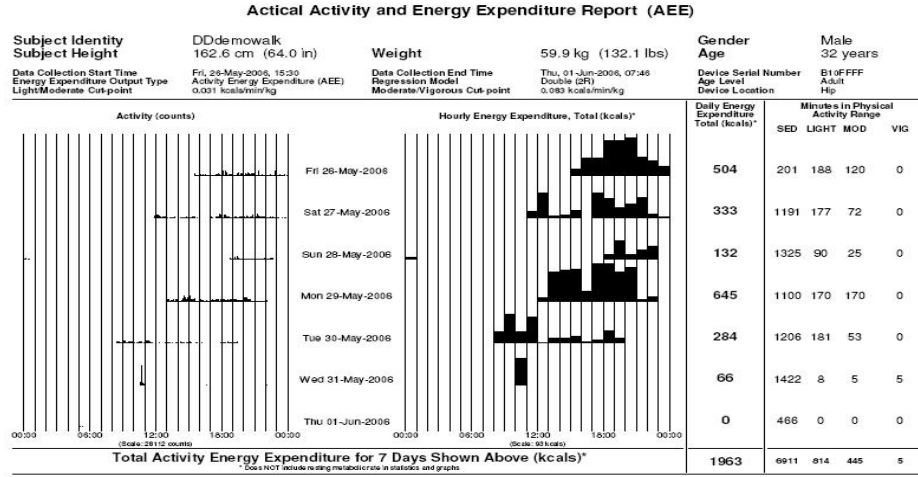
Hastalar en az 8 saatlik gece istirahati sonrası, aç karnına, muayene masası üzerinde uzanık şekilde, ağızlarına setril solunum maskeler takılarak, gözleri kapalı bir şekilde 15 dakika hareket etmeden normal nefes alıp vermeleri istendi. Ölçüm Oda sıcaklığında ve loş ışıkta yapılmıştır. Dinlenik metabolizma hızı kilocalori/gün ve yüzde olarak elde edilmiştir.

5.2.2.3. Fiziksel aktivite düzeyi (FAD) ve aktivite enerji harcaması ölçümü (AEH)

Hastaların aktivite enerji harcamaları Actical accelometre cihazı ile belirlendi. Hastaların bel bölgesine takılan cihaz ortalama 2 tam gün kalacak şekilde takıldı. Yıkama dışında ki diğer aktivitele ve gece boyunca cihazın çıkarılmaması istendi.

Cihazın bilgileri bilgisayar ortamında Actical cihazının kendi software programı ile okutuldu. Her bireyin günlük harcadığı enerji miktarını , dinlenik metabolizma da harcanan kalori miktarı hariç, Kcal (kilokalori) olarak , değişik aktivite düzeylerinde

(SED: sedentar, LIGHT: hafif, MODERATE: orta, VIGOROUS: ağır) harcadığı dakikalar verilmektedir. Actikal çıktı örneği aşağıda gösterilmektedir.(şekil 5.2)



A person of this age, gender, weight, and height needs 1486 calories to maintain their normal bodily functions.
(Based on Harris J, Benedict F. A biometric study of basal metabolism. Human Washington D.C. Carnegie Institute of Washington, 1919)

Şekil 5.2. Actikal çıktı örneği

Hastaların fiziksel aktivite düzeyini belirlemek için Actikal sonuçlarından farklı veriler kullanılarak hesaplamalar yapılabilmektedir.

Actikal' den elde edilen aktivite enerji harcaması (AEH) fiziksel aktivite düzeyine belirlemekte kullanılmıştır.

$$TTE = AEH + DMR$$

$$FAD = AEH + DMH / DMH \text{ formülünden hesaplandı (53).}$$

Aktivite düzeyi , Ulusal Araştırma Konseyi A.B.D (National Research Council) yayınladığı aktivite düzeyi kullanıldı. (Tablo 5.2)(53)

	Çok az Very Light	Az Light	Orta Moderate	Ağır heavy	Olağanüstü Exceptional
Kadın	< 1.4	1.41–1.55	1.56–1.75	1.76–2.05	>2.06
Erkek	<1.45	1.46–1.65	1.66–1.9	1.91–2.25	>2.26

Tablo 5.2 Ulusal Araştırma Konseyinin fiziksel aktivite düzeyi (FAD) (48)

Hastalar fiziksel aktivite dzeği az ve altı ($FAD \leq 1.55$) orta ve st ($FAD \geq 1.56$) olarak iki gurub'a ayrıldı. Daha sonradan aktivite düzeyini daha iyi belirlenebilmesi için fiziksel aktivite düzeylerine göre  gruba, çok az ($FAD \leq 1.40$) az ($1.41 \leq FAD \leq 1.55$), orta ve st ($FAD \geq 1.56$) olarak ayrıldı (48).

6. BULGULAR

6.1. Klinik Veriler

Aktivite düzeyi çok az, az , orta ve üstü grupların antropometrik ölçümler ve AEH değerleri bilgileri Tablo 6.1’de verilmiştir.

Tablo 6.1. Hastaların antropometrik ve AEH ölçüm bilgileri.

	Çok Az N=24	Az N= 25	Orta N=17
VKI (Kg/m ²)	34,1±6,5	35,83±6,3	31,2±3,4
DMH (Kcal/day)	1284,5±231,4	1290,2±311,7	1174,4±202,9
YK (Kg)	33,7± 9,8	38,2±11,4	29,4± 5,6
Yağsız kütle (Kg)	51,03 ± 5,6	54,7 ± 6,9	50,5±4,08
AEH (KCAL/gün)	406,2 ± 123,1	626 ± 186,6	994,8± 609,5

N= gruptaki hasta sayısı

Aktivite düzeyi az ve orta olan grupların antropometrik ölçümler ve AEH değerleri bilgileri Tablo 6.2’de verilmiştir.

Tablo 6.2. Aktivite düzeyi az ve orta olan grupların antropometrik ve AEH ölçüm bilgileri.

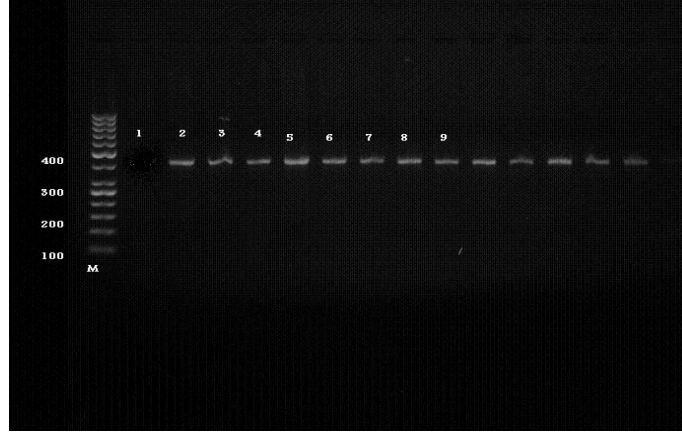
	Az N= 49	Orta N= 17
VKI (Kg/m ²)	34,8±6,5	31±3,5
DMH (Kcal)	1283± 276,7	1186,8± 192
YK (Kg)	35,6± 10,98	30,5± 5,9
Yağsız kütle (Kg)	52,6± 6,6	51,42± 3,8
AEH (Kcal/gün)	505±8,3	1031,2± 597

N= gurupdaki hasta sayısı

6.2. PZR Sonuçları

6.2.1. Lepr geni ekzon 6 PZR sonuçları

Çalışmaya alınan tüm hastaların yanak epitel dokularından Lepr geni Ekzon 6 bölgesi PZR ile çoğaltıldı. 416 bç'lik PZR ürünü % 2'lik agaroz jelde incelendi (Şekil 6.1).

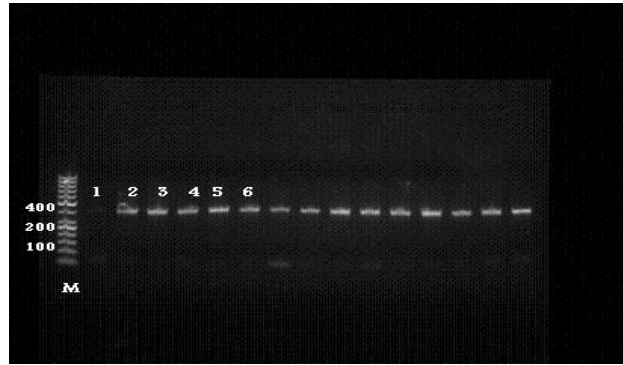


Şekil 6.1. Ekzon 6 PZR amplifikasyonu örneği.

İlk kuyu (M) 50 bç'lik marker DNA, 2, 3, 4, 5, 6-9 . kuyular ise 416 bç uzunluğundaki PZR ürününü içermektedir. 1. kuyuda ise negatif kontrol bulunmaktadır.

6.2.2. Lepr geni intron 7 PZR sonuçlar

Çalışmaya alınan tüm hastaların yanak epitel dokularından Lepr geni İtron 7 bölgesi PZR ile çoğaltıldı. 446 bç'lik PZR ürünü % 2'lik agaroz jelde incelendi. (Şekil 6.2).



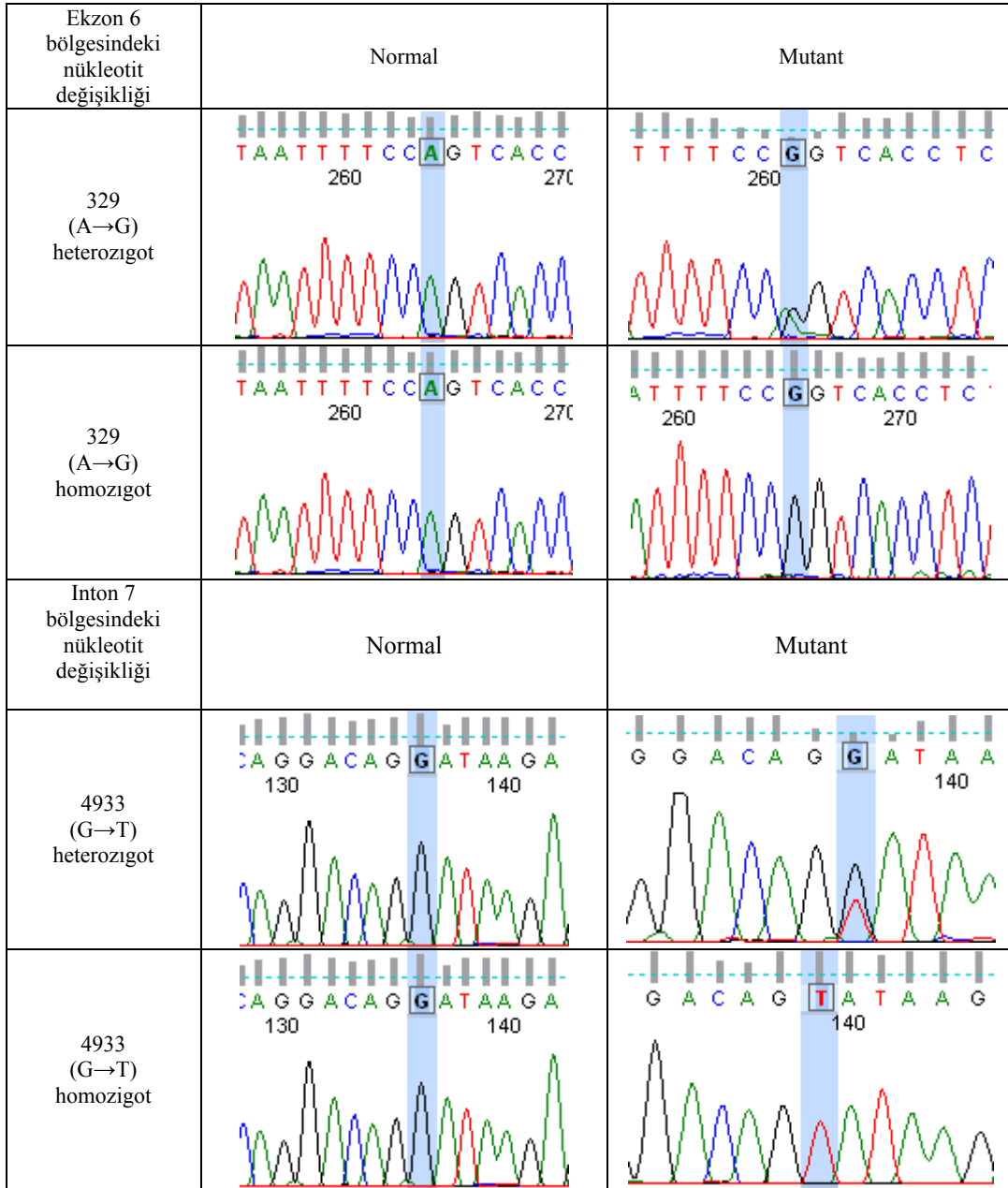
Şekil 6.2. İnton 7 PZR amplifikasyonu örneği.

İlk kuyu (M) 50 bç'lik marker DNA, 2, 3, 4, 5, 6 . kuyular ise 446 bç uzunluğundaki PZR ürününü içermektedir. 1. kuyuda ise negatif kontrol bulunmaktadır.

6.3. Dizi Analizi Sonuçları

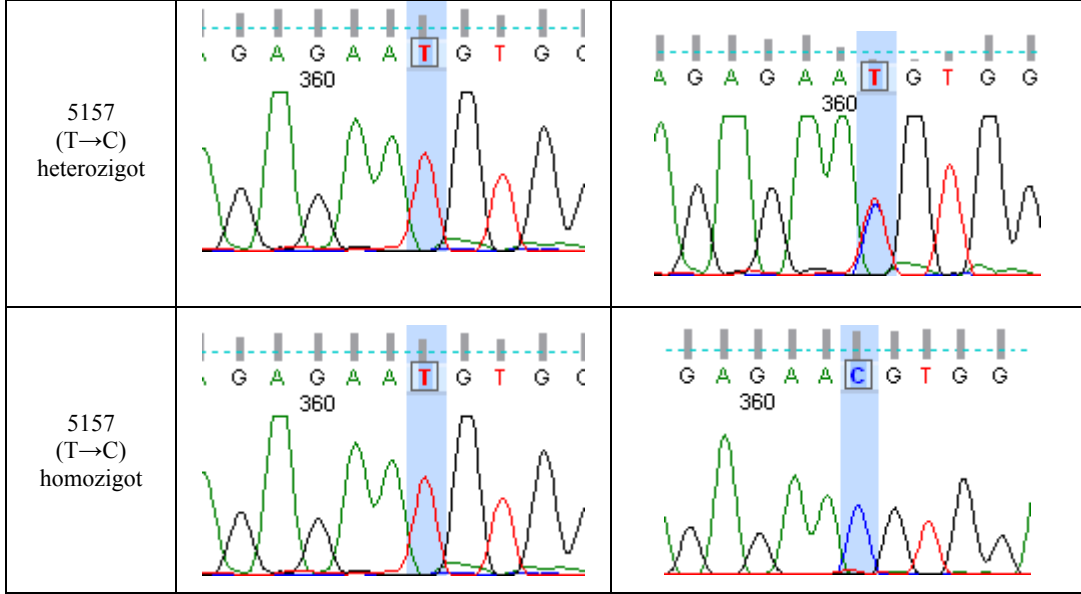
Lepr mutasyon analizi;

Lepr gen bölgelerine ait mutasyonların ve polimorfizmlerin belirlenmesi için Gen atlas ve Pubmed veri tabanları kullanılmıştır (<http://www.genatlas.org>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>, Erişim tarihi: Mart 2013). Lepr geni ekzon 6 bölgelerinde 1 polimorfizme rastlanmıştır. Intron 7 bölgesinde ise iki polimorfizm saptanmıştır. Saptanan polimorfizmlerin dizi analizi örnekleri Şekil 6.3'de gösterilmiştir.



Şekil 6.3. devamı.

Şekil 6.3. Lepr geni mutasyon ve polimorfizmlerine sahip DNA dizi analizi



örnekleri.

Dizi analizi ile belirlenen mutasyon / polimorfizmlerin Lepr genindeki yerleşimi, mutasyon oranları ve P değerleri Tablo 6.3’de gösterilmektedir.

Tablo 6.3. Belirlenen polimorfizmlerin Lepr genindeki yerleşimi.

Gen lepr	Nükleotit pozisyonu	Bölge	Nükleotit değişimi	Amino asit değişikliği	SNP oranı		P değeri	Literatürde yer almayanlar
					PAL Az	PAL Orta		
<i>Rs1137101</i>	339	6. ekzon	A→G	Gln→Arg	10/49	0/17	> 0.05	
<i>Rs1137101</i>	339	6.ekzon	A→G heterozigot		9/49	1/17	> 0.05	
<i>Rs12405556</i>	4933	7. intron	G→T	–	3/40	0/17	> 0.05	
<i>Rs12405556</i>	4933	7. intron	G→T heterozigot	–	9/49	1/17	> 0.05	
<i>Rs11268683</i>	5157	7. intron	T→C	–	5/49	0/17	> 0.05	
<i>Rs11268683</i>	5157	7. intron	T→C heterozigot	–	17/49	4/17	> 0.05	

Lepr geninde bulunan polimorfizmler ile gruplar arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. (p > 0.05)

Dizi analizi ile belirlenen Lepr gen polimorfizmlerin 3' lü hasta aktivite düzeyi gruplandırılmadaki oranları ve P değerleri Tablo 6.4 gösterilmektedir.

	Çok Az N=24	Az N= 25	Orta N=17
VKI (Kg/m ²)	34,1±6,5	35,83±6,3	31,2±3,4
DMH (Kcal/day)	1284,5±231,4	1290,2±311,7	1174,4±202,9
YK (Kg)	33,7± 9,8	38,2±11,4	29,4± 5,6
Yağsız kütle (Kg)	51,03 ± 5,6	54,7 ± 6,9	50,5±4,08
AEH (KCAL/gün)	406,2 ± 123,1	626 ± 186,6	994,8± 609,5

H = hetrozigot, M = monozigot

Tablo 6.4. Lepr gen polimorfizmlerin 3' lü hasta aktivite düzeyi gruplandırılmadaki oranları ve P değerleri.

Lepr gen polimorfizmler ile 3'lü aktivite düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. (P > 0.05)

6.4 .Antropometrik ve AEH sonuçları

Lepr gen polimorfizmler ile antropometrik ve AEH ile ilişkisi Tablo 6.5 gösterilmektedir.

Tablo 6.5. Lepr gen polimorfizmler ile antropometrik ve AEH ile ilişkisi.

	<i>rs1137101 H</i>	<i>rs113711M</i>	<i>rs1240556 H</i>	<i>rs1240556M</i>	<i>rs1126863H</i>	<i>rs112683 M</i>
Yaş	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
Kilo (kg)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
VKI (Kg/M ²)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
DMH (kcal)	P > 0,05	P > 0,05	0,003	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
YK (Kg)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
Yağsız kütle (kg)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
AEH (Kcal/gün)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05

H = hetrozigot, M = monozigot

Lepr gen polimorfizmlerinden sadece rs12405556 polimorfizminin heterozigot şekli ile DMH arasında anlamlılık saptanmıştır. ($p < 0.05$).

Diğer polimorfizmler ile antropometrik ve AEH ölçümleri arasında farklılık saptanmadı. ($P > 0.05$)

Az aktivitesi olan obezler ile orta aktivitesi olan grupların antropometrik ölçümleri ve AEH değerleri açısından farklılıkları, Tablo 6.6 gösterilmektedir.

	Az N= 49	Orta N= 17	P değeri
VKI (Kg/m ²)	34,8±6,5	31±3,5	0,19
DMH (Kcal)	1283± 276,7	1186,8± 192	P > 0,05
YK (Kg)	35,6± 10,98	30,5± 5,9	0,02
Yağsız kütle (Kg)	52,6± 6,6	51,42± 3,8	P > 0,05
AEH (Kcal/gün)	505±8,3	1031,2± 597	0,002

N= hasta sayısı

Tablo 6.6. Az aktivitesi olan obezler ile orta aktivitesi olan grupların antropometrik ölçümleri ve AEH değerleri açısından farklılıkları.

Antropometrik ölçümler ile gruplar arası farklılık VKI ($p = 0.019$), Yağsız K ($p = 0.02$) ve AEH ($p = 0.002$) gözlemlenmiştir. Diğer ölçümler için herhangi anlamlılık saptanmamıştır. ($p > 0.05$).

Çok az aktivitesi olan obezler ile az ve orta aktivite düzeyi olan obezler ile antropometrik ölçümler ve AEH değerleri açısından farklılıkları Tablo 6.7 ' de gösterilmiştir.

	Çok Az N=24	Az N= 25	Orta N=17	P Değeri
VKI (Kg/m ²)	34,1±6,5	35,83±6,3	31,2±3,4	0,04
DMH (Kcal/day)	1284,5±231,4	1290,2±311,7	1174,4±202,9	P > 0,05
YK (Kg)	33,7± 9,8	38,2±11,4	29,4± 5,6	0,01
Yağsız kütle (Kg)	51,03 ± 5,6	54,7 ± 6,9	50,5±4,08	P > 0,05
AEH (KCal/gün)	406,2 ± 123,1	626 ± 186,6	994,8± 609,5	0,00

N= hasta sayısı

Tablo 6.7. Çok az aktivitesi olan obezler ile az ve orta aktivite düzeyi olan obezler ile antropometrik ölçümler ve AEH değerleri açısından farklılıkları

Çok az aktivitesi olan obezler ile az ve orta aktivite düzeyi olan obezler ile antropometrik ölçümler ve AEH değerleri açısından farklılık VKI (p=0.04), YK (p=0.01) ve AEH (0.00) gözlemlenmiştir. Diğer ölçümler için herhangi anlamlılık saptanmamıştır. (p>0.05). Gruplar arasındaki farkın hangi değişkenden kaynaklandığını Tablo 6.8 'de gösterilmiştir.

Tablo 6.8. Gruplar arasındaki farkın hangi değişkenden kaynaklandığını

	Çok az		az		orta	
	az	Orta	çok az	orta	çok az	az
	P değeri		P değeri		P değeri	
VKI (Kg/m ²)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	0,03	P > 0,05	P > 0,05
DMH (Kcal)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
Yağsız kütle (Kg)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
YK (Kg)	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	0,01
AEH (Kcal/gün)	P > 0,05	0,00	P > 0,05	0,003	P > 0,05	P > 0,05

P<0.05 'den anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 6.8 'de gösterildiği üzere VKI düzeyinde az aktif ve orta derecede aktif olan hastalar arasında istatiksels anlamlılık gözlemlenmiş ($p = 0.03$) . Orta derecede aktive hastaların ortalama VKI daha fazladır.

YK değişkeninde az ve orta derecede aktif olan hastalar arasında istatiksels anlamlılık var. ($p= 0.01$) . Az derecede aktive olan grubun ortalama YK oranı daha fazladır.

AEH değişkeninde çok az ve orta derecede aktif olan hastalar arasında istatiksels anlamlılık var ($p=0.00$) . Az ve orta düzeyde aktif olan hastalarda da istatiksels anlamlılık var ($p= 0.003$) . Orta düzeyde aktif olan hastaların ortalama AEH diğer gruplara göre daha fazladır (994.8 ± 609.5) . Çok az düzeyde aktif grubun AEH ortalaması en azdır.(406.2 ± 123.1)

7. Tartışma ve sonuç

Epidemiyolojik çalışmalar vücut ağırlığındaki %30-%70 oranındaki varyasyonların genetik faktörlere bağlı olduğunu göstermiştir. Obezite multifaktöryel bir hastalık olup hem genetik hem de çevresel komponentleri vardır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda monogenik sendromlar dışında mutlaka obezite ile sonuçlanan tek bir genetik hasar veya mutasyon ortaya konamamıştır. Bir kısım obeziteye eğilim yaratan gen varyantları saptanmışsa da bunlar obezite gelişimi için yeterli değildir. Çalışmalar obezitede genetik katkının %25- %40 oranında olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalar şişmanlık oluşumunda kalıtım veya genetik faktörlerin % 25-40 oranında rol oynadığını göstermiştir. Şişman kişilerin çocuklarında şişman olmayanlara göre şişmanlık görülme sıklığı 2-3 kat fazladır (1,9).

Obezitenin en önemli risk faktörlerini, fiziksel aktivitede azalma, beslenme alışkanlıkları, yaş, cinsiyet (kadın), eğitim, evlilik, doğum sayısı ,ve genetik yapı oluşturmaktadır. Fiziksel aktivite isteği genel olarak çevresel bir faktör olarak bilinse de, ikizlerde yapılan çalışmalar genetik faktörlerin de önemli rol oynadığını ortaya koymuştur (5). Bireyden bireye değişen aktivite isteğinde bu faktörün de etkili olduğu gösterilmiş ve buna dayanarak obez/kilolularda, aktivite düzeyine etkili olan genler ve bunlara bağlı fenotipik özelliklerin (VKI ve DMH) araştırılması öngörülmüştür.

Bütün obez bireylerde enerji alımı ile tüketimi arasında bir dengesizlik vardır. Hastaların yeme alışkanlıkları ve fiziksel aktiviteleri enerji dengesini etkilemektedir. Etnik ve sosyal kimlik, bazı özel yeme şekilleri ve bazı gıdalar obezite gelişimi ile ilişkilidir. Yaş, cinsiyet, doğum sayısı, evlilik, sigarayı bırakma, alkol tüketimi, teknolojik gelişimle birlikte sedanter yaşam, fastfood tarzı hızlı ve yüksek kalorili gıdaların tüketiminin yaygınlaşması obezite gelişimini etkileyen çevresel faktörler arasında sayılabilir.

LEPR gen lokusundaki genetik değişikliklerin insan obezitesi patofizyolojisinde, özellikle leptin direnciyle ilgili olarak önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. LEPR Gln223Arg gen polimorfizminin obezite ile anlamlı derecede bağlantılı olduğu tesbit

edilmiştir. Quebec ve Heritage Aile Çalışmaları'nda Gln223Arg polimorfizmi ile vücut kompozisyonları arasında önemli bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (54, 55) .

Fiziksel aktivite toplam günlük enerji tüketiminde önemli bir role sahip olup vücut ağırlığının regülasyonuna katkıda bulunur. Fiziksel aktivite, yağ asidi sentazın gen ekspresyonunun regülasyonunu ve lipogenezi azaltır. Dolayısıyla bu değişiklikler gen-fiziksel aktivite etkileşimi sayesinde obezite ile ilişkili genlerin etkisini azaltabilir. Yüksek fiziksel aktivite, özellikle obeziteye genetik olarak yatkınlığı bulunan kişilerde kilo alımının önlenmesine yardımcı olur. De Moor ve arkadaşlarının Hollanda ve Amerikalı yetişkinlerde üzerinde yaptıkları tüm genom egzersiz davranışı çalışmalarında, lepr geninin intron 7 de bulunan rs12405556 polimorfizminin, egzersiz düzeyini pozitif etkilediği gösterilmiştir (7). Sadece birkaç çalışma obez hastalarda bazı mutasyonların fiziksel aktiviteye etki ettiğini göstermiştir(18). N Stefan ve arkadaşlarının Pima Hintlerinde yaptıkları çalışmada Gln 223 Arg polimorfizminin 24 saatlik enerji harcamasında, fiziksel aktivite düzeyinde, etkili olduğunu bildirmiştir (18) . Yunanlı genç erişkinlerde yapılan başka bir çalışmada Lepr genin Gln223Arg gen polimorfizmi ile VKI, deri kıvrım kalınlıkları, serbest vücut yağı, besin alımı ve egzersiz şekilleri incelenmiş ve Lepr Gln223Arg gen polimorfizminin sadece obezite ile anlamlı derecede bağlantılı olduğu tesbit edilmiştir. (56). Bizim çalışmamızda 66 obez/fazla kilolu kadında Gln223 Arg polimorfizmi ve intron 7 de bulunan rs12405556 polimorfizme ek olarak intron 7'nin 5157 pozisyonunda bulunan bir polimorfizm daha tespit edilmiştir. Ancak egzersiz düzeyinde herhangi anlamlılık saptanamadı. ($p>0.05$).

Lepr geninin polimorfizmlerinin, VKI, YK, Yağsız K 'i etkilediği çalışmalar mevcuttur. Buchard ve arkadaşlarının 169 kadın ve erkek üzerindeki yaptıkları çalışmalarında Lepr geninin rs1137101 polimorfizmi ile düşük YK oranı saptanmıştır (54). Yine benzer bir çalışmada Yunanlı genç erişkinlerde Lepr genin Gln223Arg gen polimorfizmi ile VKI arasında anlamlılık bulunmuştur (56). Bizim yaptığımız egzersiz düzeyinden bağımsız , sadece Lepr genindeki polimorfizimler ile antropometrik ölçümler arasında istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır. ($p>0.05$). Elde edilen farklılıkların hasta sayısı ve hasta grubu seçiminden kaynaklanıp düşünmekteyiz.

DMH ile ilgili genetik faktörler yok veya yok denecek kadar kısıtlıdır. Yapılan birçok çalışmada DMH'i etkileyen genetik faktörler arasında ilişki bulunamamıştır. Yapılan çalışmalar arasında en güçlü anlamlılık Claude Bouchard ve arkadaşlarının DMH ile UCP2 geni arasında ki anlamlılık gösterilmiştir. (3,13) Loos Rg ve arkadaşlarının Lepr geninin Gln 223 Arg polimorfizminin DMH ile ilişkisi olmadığını oratya koymuştur. Bizim çalışmada Gln 223 Arg polimorfizmi ile DMH arasında anlamlılık bulunamamıştır, ancak intron 7 'nin 5157 pozisyonunda lokalize olan rs rs12405556 heterozigot formu ile DMH arasında anlamlılık saptanmıştır ($p = 0.003$). DMH genetik faktörler dışında yaş, cinsiyet, hormon düzeyi, uyku, alkol ve sigara tüketimi, mineral ve vitamin tüketimi ve VKI gibi faktörlerden etkilenmektedir (8,16). VKI artıkca, Yağsız K artar dolayısı ile dinlenik metabolik hızıda da artış beklenmektedir (20). Elde edilen verilerin farklı çıkmasında hasta seçim kriterleri önem taşımaktadır..

Fiziksel aktivite, yağ asidi sentazın gen ekspresyonunun regülasyonunu ve lipogenezi azaltır. Yüksek fiziksel aktivite, özellikle obeziteye genetik olarak yatkınlığı bulunan kişilerde kilo alımının önlenmesine yardımcı olur. Fiziksel aktivite yağ dokusunda azalma ve uzun sürede kas yapımına neden olur. Yapılan çalışmalarda aktivitenin VKI 'nı ve YK'i azalttığını oratya koymuştur. Fiziksel aktivite düzeyinin DMH üzerindeki direkt etkisini gösterebilecek çalışmalar DMH etki eden faktörlerin aktivite ile sınırlı olmadığıdır (20). Yaptığımız çalışmada değişik aktivite düzeyleri ve DMH arasında anlamlılık bulunamazken ($p > 0.05$) VKI ($p = 0.01$), YK ($p = 0.02$) ve AEH ($P = 0.002$) ile anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların etnik farklılıklardan, çalışma gruplarının sayısal farklılıkları ve kullanılan tekniklerden kaynakladığını düşünmekteyiz. Özellikle fiziksel aktivite ve AEH ölçümlerinde çok farklılıklar bulunmaktadır. Fiziksel aktivite birçok çalışmada anket yolu ile bireylerin kendi raporlama sistemlerine dayanmaktadır (59). Anket ile yapılan çalışmalarda bireylerin aktivite düzeyinin doğru şekilde rapor edemedikleri bazı karşılaştırılmalı çalışmalar ile gösterilmiştir, buna örnek olarak, hasta tarafından bilgilerin doğru algılanması ve hatırlanması gösterilebilir (57). Ayrıca Literatürde, fiziksel günlük yaşam aktivitelerinin belirlenmesinde dünya çapında kabul edilen (veya altın

standartlar olan) aktivitelerin gözlemlenmesi ve enerji tüketiminin tespiti (DLW ve kalorimetri) yöntemlerinin birer kriter olduğuna dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, sınırlılıkları nedeniyle bu yöntemlerin klinik uygulamada veya büyük popülasyonlardaki çalışmalarda kullanılması beklenmemektedir.(57)

Bizim çalışmamızda, fiziksel aktivite düzeyini belirlemek için kullandığımız Actical accelometer cihazının günlük enerji harcaması ve fiziksel aktivite düzeyinin belirlenmesinde hem ucuz hem de daha doğru ve kuantitatif veriler sağladığı bir çok karşılaştırılma araştırmalar ile valide edilmiştir (58,48).

Türk obezler de Lepr gen polimorfizmi ile egzersiz isteği ve bunlara bağlı DMH ve VKI fenotipik özelliklerin ilişkisini araştıran ilk çalışma olması nedeniyle çalışmamızın değerli olduğunu ve bu konuda daha geniş serilerde, birden fazla gen polimorfizmin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

8. KAYNAKLAR

- 1) Dunitz M, Kopelman PG. (2003). Obezite ve Tedavisi, Format Yayınevi, 1. Baskı , İstanbul.
- 2) Altunkaynak BZB , Özbek E. (2007). Obezite: Nedenleri ve Tedavi Seçenekleri Dicle Tıp Dergisi, Cilt: 34, Sayı: 2, (144-149)
- 3) G Beunen, and M Thomis .(1999). Genetic determinants of sports participation and daily physical activity. *International Journal of Obesity*, Volume 23, Supplement 3, Pages s55-s63
- 4) Chagnon YC, Wen JI Chen T , Perusse L, Chagnon M, William AN, Wilkison T, Bouchard C. Linkage and association studies between the melanocortin receptors 4 and 5 genes and obesity-related phenotypes in the Quebec family study . *Molecular Medicine* Volume 3, 663-673.
- 5) O'rahilly S, Farooqi IS, Yeo G, Challis BG. (2003) . Minireview: Human Obesity—Lessons from Monogenic Disorders .*The Endocrine Society*,144 (9): 3757
- 6) Karaca A, Ergen E , Koruç Z. (2000). Fiziksel Aktivite Değerlendirme Anketi (FADA) Güvenirlilik ve Geçerlik çalışması. *Hacettepe J.Sport Sciences*, 11(1-2-3-4), 17-28
- 7) Moor M, Liu YJ , Boomsma DI, Li J, Hamilton LJ, Hottenga JJ, Levy S, GanLiu X, Pei YF, Posthuma D , Recker RR, Sullivan PF , Wang L, Willemsen G, Yan H , De EJC, Deng HW. (2009). Genome-wide association study of exercise behavior in Dutch and American adults. *Med Science Sports Exercise*, (10):1887-1895
- 8) Craig R. White, and Roger S , (2002) . Mammalian basal metabolic rate is proportional to body mass. *Proceedings of National Academy of science of the United State of America*, 19:536–562.
- 9) Jacobson P, Rankinen T, Tremblay A, Pérusse L, Chagnon YC, Bouchard C, (2006). Resting metabolic rate and respiratory quotient: results from a genome-wide scan in the Quebec family. [Am J Clin Nutr.](#) , 84(6):1527-33.

- 10) Ravussin E, Lillioja S, Knowler WC, et al, (1988) . Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *N Engl J Med*,318:467–72.
- 11) Doriaz O, Dionne F, Perusse L, Tremblay A, Voh MC, Cote G ,Bouchard C.(1994). DNA variation in the genes of the NaK-Adenosine Triphosphatase and its relation with resting metabolic rate, respiratory quotient, and body fat. *The Journal of Clinical Investigation*, 93(2):838–843.
- 12) Gagnon CJ, Mauriège P, Roy S, Sjöström D, Chagnon YC, France T. Dionne, JM Oppert, Pérusse L, Sjöström L, Bouchard C, (1996). The Trp64Arg mutation of the *β3* adrenergic receptor gene has no effect on obesity phenotypes in the Québec family study and Swedish obese. *J Clin Invest.* 1; 98(9): 2086–2093
- 13) Bouchard C , Pérusse L , Yvon C. Chagnon, Warden C, Ricquier D, (1997) . Linkage between markers in the vicinity of the uncoupling protein 2 gene and resting metabolic rate in humans. *Hum Mol Genet*, Oct;6(11):1887-9
- 14) U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. Dietary Guidelines for Americans, 2005. 6th Edition, Washington, DC: U.S.
- 15) G Beunen¹, M Thomis, Leuven KU, Tervuursevest, (1999). Genetic determinants of sports participation and daily physical activity. *International journal of Obesity*. V: 23, Pages s55-s63.
- 16) John R. Speakman, Selman C, (2003). Physical activity and resting metabolic rate (PNS publication 62, 621–634) . Aberdeen: UK . Centre for Energy Regulation and Obesity, Division of Energy Balance and Obesity.
- 17) William MA , Katch Frank I, Katch Victor L, (2001) . Energy expenditure in household, occupational, recreational and sports activities. *Exercise Physiology Energy, Nutrition, and Human Performance*. fifth edition. page: 1103-1115.

- 18) Styne DM. Childhood and adolescent obesity, prevalence and significance. *Pediatr Clin North Am* 48:823-854, 2001.
- 19) Reaven GM , (1991). Insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia: role in hypertension, dyslipidemia, and coronary heart disease. *Am Heart J*, 121:1283–1288.
- 20) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. (2001). Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) . Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults .*JAMA* .285:2486-2497.
- 21) Ten S, Maclaren N,(2004) . Insulin Resistance Syndrome in Children. *J Clin EndocrinolMetab.* 89:2526-2539.
- 22) Weiss R, Dziura J, Burget TS, Tamborlane WV, Taksali SF, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Shewin RS, Caprio S, (2004). Obesity and metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* . 350:2362-2374.
- 23) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Leopold L, Freidman JM., (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homolog. *Nature* 372:425-432.
- 24) American Academy of Pediatrics, Section on Pediatric Pulmonology, Subcommittee on Obstructive Sleep Apnea Syndrome. Clinical practice guideline: diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome. *Pediatrics* 109:704–712, 2002.
- 25) Dietz WH, Gross WL, Kirkpatrick JA Jr, (1982). Blount disease (tibia vara):another skeletal disorder associated with childhood obesity. *J Pediatr* 101:735–737.
- 26) Kelsey JL, Acheson RM, Keggi KJ. (1972) . Body mass index and slipped capital femoral epiphysis. *Am J Dis Child* .124:276-281.
- 27) Pinhas-Hamiel O, Dolan LM, Daniels SR, Standiford D, Khoury PR, Zeitler P,(1996)

- Increased incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus among adolescents. *J Pediatr* . 128:608–615.
- 28) Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. (200). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 30:48–53, 2000.
- 29) Alemzadeh R, Lifshitz F. Childhood obesity. In: Lifshitz F (2003). *Pediatric Endocrinology* (4th ed). New York: US. 823–58.
- 30) Tüzün M. Obezite tanım,(1995) . Sıklık, tanı, sınıflandırma, tipleri, dereceleri ve komplikasyonları. *Obezite ve Tedavisi*, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi.
- 31) Aktaş N. (1993) . Kamu kesiminde çalışan kadınların demir tüketim durumları ve ilgili hematolojik parametreler. *Bilimsel Arastama ve İncelemeler*. A. O. Ziraat Fakültesi Yayınları; 1329: 734–5.
- 32) Rabia ÇELİK.(2008). Isparta Eğirdir İlçesi 15–49 Yaş Evli Kadınlarda Obezite Prevalansı ve İlgili Risk Faktörlerin Belirlenmesi. S.DemirelÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi,Isparta, (Danışmanlar : Doç. Dr. A. Nesimi KİŞİOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Yonca SÖNMEZ)
- 33) Ernsberger P, Nelson D, (1995) . Refeeding hypertension in dietary obesity. *American J of Physiology*. 254:47-55, 1995.
- 34) Pekcan G, (2000). Şişmanlığın Tanımı ve Saptanması. III. Uluslar arası Beslenme ve Diyetetik Kongresi. Kongre Bildirileri. 12-15 Nisan, Ankara, 45-55.
- 35) Kır T, Kılıç S, Uçar M, Açikel C, Göçgeldi E, Oğur R.(2004). Elerde Obezite Prevalansının Ve Etkileyen Faktörlerin Saptanması. *Gülhane Tıp Dergisi*; 46 (3): 219 – 25.
- 36) Lyznicknicki JM, Young DC, Riggs JA, Davis RM.(2001). Obesity: assesment and management in primary care. *American Family Physcian*. 63: 2185–96.
- 37) Dickerson L, Carek PJ. (2000). Drug terapy of obesity. *Am Fam Physcian*. 51: 2131–38.

- 38) Power C, Parsons T. (2000) .Nutritional and other influences in childhood as predictors of adult obesity. *Proc Nutr Soc* 59:267-72.
- 39) Garn SM, Sullivan TV, Hawthorne VM. (1989). Fatness and obesity of the parents of obese individuals. *Am J Clin Nutr* . 50:1308-1313.
- 40) Stunkard A, Sorenson T, Harris C. (1986) . An Adoption Study of Human Obesity. *N. Engl J Med*. 314:193-198.
- 41) Comuzzie AG, Allison DB (1998). The search for human obesity genes. *Science* 280:1374-7.
- 42) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Leopold L, Freidman JM, (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homolog. *Nature* 372:425-432.
- 43) Bray GA. (1989). Classification and evaluation of the obesities. *Med Clin North America*. 73: 161-84.
- 44) Alikashiöglu A, Yordam N, (1996). Obez çocuğun belirlenmesi. *Katkı Pediatri Dergisi* 17: 341-55.
- 45) Gündaağ M. (1994). Şişmanlığın Tedavisinde Kullanılan Bilimsel Diyetler. Şişmanlık Çeştli Hastalıklarla Etkileşimi ve Diyet Tedavisinde Bilimsel Uygulamalar, Arslan, P(ed.), Türkiye Diyetisyenler Derneği Yayını:4, Ankara.
- 46) Wadden AT, Stunkard JA.(2003). Obezite Tedavi El Kitabı Türkçesi, 1.Baskı, And yayıncılık, İstanbul.
- 47) Küççüktürk S. (2009). Kony Popülasyonunda İnsan Leptin Reseptör Genindeki Gln223Arg Polimorfizmi ile KOSAHS Arasında İlişki Analizi. SÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya (Danışman: Prof. Dr. Sennur DEMĞREL)
- 48) Dale A Schoeller, (2012). Balancing energy expenditure and body weight. *Am J Clin Nutr* 1998;68(suppl):956S–61S.

- 49) Temizkan G, Arda, N. (1999). Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, Türkiye, 59.
- 50) William SK, Michael RC. (2002). Concepts of Genetics (Çev: Öner C), Palme Yayıncılık, Ankara, 744-745.
- 51) Fahy TD, Insel PM, Roth WT. (2005). Fit and Well. McGraw-Hill, Sixth Edition, USA.
- 52) ALTINTAÇ D. (2007) . Pilates Egzersizlerinde Fiziksel Uygunluk Üzerine Etkileri. MÜ. Sağlık Bilimleri İnstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof.Dr.A.Pehlivan)
- 53) Klaas R. Westerter P, Plasqui G,(2004) . Physical activity and human energy expenditure. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 7:607–613.
- 54) Chagnon YC, Chung WK, Perusse L, Chagnon M, Leibel RL, Bouchard C.(1999). Linkages and associations between the leptin receptor gene and human body composition in the Quebec Family Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 23: 278- 286.
- 55) Chagnon YC, Wilmore JK, Borecki IB, et al. Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the heritage family study.(2000). *J Clin Endocrinol Metab* 85:29–34.
- 56) Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D , Mantzoros CS, (2001).The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 86:4434–4439, 2001.
- 57) Pitta F, Troosters T, Probst V.S, Spruit M.A, Decramer M, Gosselink M, (2006) . KOAH'ta anketler ve hareket sensörleri ile günlük yaşamdaki fiziksel aktivite belirleme. *Eur Respir J ; 27: 1040–1055.*
- 58) Richard P. Triona , Berrigani D, Kevin W. Dod D, Louise C. Tiler T , McDowell (2007)

Physical Activity in the United States Measured by Accelerometer . MEDICINE SCIENCE
IN SPORTS & EXERCISE. DOI: 10.1249/mss.

59) Beunen G, Thomis M. (1999). Genetic determinants of sports participation and daily
physical activity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999;23:S55–S63

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Aylar	Soyadı	TAFAZZOLI
Doğum Yeri	Tabriz	Doğum Tarihi	18.12.1984
Uyruğu	İran	TC Kimlik No	
E-mail	aylartafazzoli@gmail.com	Tel	5416778657

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü	2013
Lisans	Tabriz Üniversitesi	2009
Lise	Ooloom Pezeshki Lisesi	2003

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. Stajyer	Center for Regenerative Therapies, Dresden Teknik Üniversitesi, Dresden, Almanya	2013

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	Orta	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu

KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
		6.5	86					

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Word	Çok iyi
Microsoft Powerpoint	Çok iyi
Microsoft Excel	Çok iyi

10. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Klinik Araştırmalar
Ön Değerlendirme Komisyonu

PROJENİN ADI: Obese/ Fazla Kilo Kadınlarında Aktivite İsteğinde Etkili Olan Genler ve Bunlara Bağlı Fenotipik (VKI ve BMH) Özelliklerin Araştırılması
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Yrd. Doç. Dr. A. İter GÜNEY
PROJEDEKİ ARASTIRICILAR: Ayhan TAPAZZOLİ
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 25.11.2011 - 4

Sayın Yrd. Doç. Dr. A. İter GÜNEY

102 protokol no.lu "Obese/ Fazla Kilo Kadınlarında Aktivite İsteğinde Etkili Olan Genler ve Bunlara Bağlı Fenotipik (VKI ve BMH) Özelliklerin Araştırılması" isimli projeniz Enstitümüzün ön değerlendirme komisyonunda incelenmiş ve araştırmanın Komisyonumuzun ön değerlendirme kriterlerine uygunluğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Gilden Z. OMURTAG
Komisyon Başkanı

Doç. Dr. Ebru İŞİK ALTURFAN
Komisyon Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Gökayanoğlu DOLGER

Prof. Dr. Refika ERSU

Doç. Dr. Asım ÇİNGİ

Yrd. Doç. Dr. Mustafa TAŞDEMİR

Prof. Dr. Serap AKYÜZ

Prof. Dr. Aysel PEHLİVAN

Doç. Dr. Oğuzhan DEYNELİ

Yrd. Doç. Dr. Murat ÇEKİN

Öğr. Gör. Dr. Fatma GÜVEN

Marmara Üniversitesi - Sağlık Bilimleri Enstitüsü
10000 Burhanettin YAKAR Caddesi

0 216 311 41 11
0 216 311 44 22/22 (Faks)

www.marmara.edu.tr
http://saglik.marmara.edu.tr